

fünf, bei *L. similis* Schin. vier undeutliche Längslinien mit scheinbar weniger dichter Pubescenz: bei *Calamoncosis* ist die Pubescenz spärlich, kurz, nicht anliegend und auf dem Thorax nicht gescheitelt.

Einige dieser Differenzen sind so stark, daß sie allein schon im Vergleich mit der Gattungsdifferenzierung der übrigen Oscinosomen als Gattungsmerkmal gebraucht werden können, und wie ich schon sagte, ist die Stellung von *Lipara* stark isoliert, während man *Calamoncosis* — will man sie auf alle Fälle einziehen — nur als Subgenus zu *Oscinosoma* gezogen werden könnte. Dann müßten aber auch eine ganze Reihe anderer Gattungen fallen. *Lipara* und *Calamoncosis* haben nur gemeinsam, daß r_1 etwa in der Flügelmitte endet, während bei allen übrigen Oscinosomen r_1 etwa am Ende des ersten Flügeldrittels endet. Diese Differenz bildet auch im wesentlichen den Unterschied zwischen *Calamoncosis* und *Oscinosoma*.

3. Fluorescenz der Zellen. — Reicherts Fluorescenzmikroskop.

Von S. v. Prowazek.

(Aus d. Institut f. Schiffs- u. Tropenkrankheiten Hamburg. Leiter Obermedizinalrat Prof. Nocht.)

eingeg. 1. Juni 1913.

Fluorescenzerscheinungen bei Organismen waren bis jetzt verhältnismäßig selten Gegenstand eingehender Studien. Auf Grund der mir zugänglichen Literatur wiesen zuerst Helmholtz (Pogg. Ann. 1855) und Setschenow (Gräfes Archiv 1859) nach, daß die Stäbchen und die Zapfenschicht des Auges fluoreszieren, selbst wenn sie des Sehpurpurs beraubt werden (Kühne). Parinaud machte den Versuch, das sogenannte Dämmerungssehen auf Fluorescenzerscheinungen des Sehpurpurs zurückzuführen, der durch kurzwellige Strahlen erregt wird, eine Annahme, gegen die sich Nagel in seinem Handbuch der Physiologie wendet. Nach Himstedt und Nagel (Ber. d. Freib. Naturf. Gesellschaft 1901) rufen Radiumstrahlen eine Fluorescenz in der Linse und im Glaskörper hervor. — Den älteren Physiologen war die Fluorescenzfähigkeit der Nägel, der Hornsubstanzen sowie des Chitins bekannt, und einige Forscher neigten der Annahme zu, daß die kurzwelligen Strahlen, die durch das Foramen parietale des Scheitelbeines mancher Eidechsen (*Hatteria*, *Varanus*, *Iguana*) gelangen, an Ort und Stelle Fluorescenzerscheinungen auslösen können und so das rudimentäre parietale Auge der Saurier irgendwie erregen. — Am längsten bekannt ist die Fluorescenz des Chlorophylls sowie mancher seiner Derivate (L. Marchlewski, Die Chemie des Chlorophylls, Hamburg 1895), mit der einige Forscher (Čelakovský) die wichtigsten Funktionen des Chlorophylls in einen direkten Zusammenhang bringen. Auch die Bakteriologen

haben den Fluoreszenzerscheinungen an den Bakterienzellen ihre Aufmerksamkeit gewidmet, und Gessard (Ann. Inst. Pasteur 1892, Bd. 6) versuchte den Nachweis zu erbringen, daß bei *Bac. pyocyaneus* zwei Farbstoffe, ein Pyocyanin und ein fluoreszierender Farbstoff gebildet werden, welch letzterer nur bei Überwiegen des Phosphatgehaltes der Nährlösungen produziert wird. Thumm berichtigte diese Anschauung dahin, daß ein Mangel an Fluoreszenz nicht unbedingt einen Schluß auf einen Mangel an Phosphaten gestattet, vielmehr daß ein Fehlen des Magnesiums jene Ausfallerscheinungen zur Folge hat (Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule Karlsruhe 1895). —

Indirekt wurde auf die Fluoreszenzerscheinung die Aufmerksamkeit durch die Ausnutzung des ultravioletten Lichtes in der Mikroskopie durch die grundlegenden Untersuchungen von Köhler (1904) gelenkt, die in der Folge besonders durch Kruis, Némec, Stempell (vgl. Kruis, Bullet. internac. d. Acad. d. sc. d. Bohême, Prag 1913) u. a. m. weitergeführt worden sind. Reichert konstruierte unter Zuhilfenahme des sogenannten Dunkelfeldes ein Fluoreszenzmikroskop, mit dem zuerst Landsteiner, M. Tswett u. a. gearbeitet haben. Nach den Angaben von Reichert benutzte Tswett das Licht einer an ultravioletten Strahlen reichen Bogenlampe, das von einer Quarzlinse gesammelt, sodann durch ein Lichtfilter geschickt wurde, das nur Strahlen von $\lambda < 450$ passieren läßt. Der Lichtkegel durchdringt hernach einen Quarzkondensor mit Dunkelfeldblende und gelangt durch eine Glyzerinschicht (Öle fluoreszieren selbst) zu dem auf einem Quarzglasobjektträger montierten Objekt, das zu Fluoreszenzerscheinungen veranlaßt wird. Tswett (Berichte d. deutschen Botan. Gesellschaft 29. Jahrg. XXIX. 1911) untersuchte auf diese Weise *Spirogyra*-, *Oscillaria*- und *Helodea*-Blätter und bestimmte die Brechbarkeit des Lichtes mit Abbés Spektralecular.

Durch das weitgehende Entgegenkommen der Firma Reichert (Wien) bediente ich mich im wesentlichen derselben Versuchsanordnung, die auch Tswett zur Verfügung stand. Zur Analyse der mikroskopischen Bilder überließ mir die Optische Anstalt G. Rodenstock (München) einen Satz Enixantogläser sowie eine Serie von Hygatgläsern, die schwere Metalloxyde in hohem Prozentsatz enthalten und die ultravioletten Strahlen absorbieren (Dr. F. Coblitz, Die neuen Hygat-Brillengläser, München). Meine Versuchsanordnung war folgende:

- 1) Bogenlicht. Kohle: Marke »Dochtkohle« 11 cm lang; Diam. 2,3; »Homogenkohle« 11 cm lang; Diam. 1,8 cm; 250 Volt; 30 Ampère.
- 2) Eine für ultraviolette Strahlen durchlässige Quarzlinse.
- 3) Ein Filter zur Absorption der sichtbaren Strahlen: Kupfersulfat 20% und Nitrosodimethylanilinhydrochlorid 1 : 48000.

- 4) Dunkelfeldkondensor mit Quarzlin sen.
- 5) Quarzobjektträger.
- 6) Gewöhnliche Objektive (Trockensysteme) und Apochromatoculare.

Im wesentlichen war die Anordnung dieselbe, wie sie die Firma C. Reichert, Wien VIII, in ihrem provisorischem Prospekt angibt.

Bis jetzt sind von mir mit dem Reichertschen Fluoreszenzmikroskop folgende Organismen auf ihre Fluoreszenz hin geprüft worden: *Spirogyra*, Desmidiaceae, Diatomeae, *Borrelia* (syn. *Spirochaeta*, *Spiroinema*) *gallinarum*, Amöben, *Euglena*, Kulturflagellaten von *Leucocytozoon* und *Halteridium*, die mir Dr. Mayer zur Verfügung gestellt hatte, *Trypanosoma equiperdum* (Dourinetryp.), *Tryp. brucei* (Nganatryp.), *Colpidium*, *Paramaecium*, *Chilodon*, *Vorticella*, *Hydra viridis* L., Turbellarien (Rhabdocoelidae), *Daphnia*, Cyclopiden, Insektenlarven (*Chironomus*), Blut von Seidenraupen, Schneckenlaich, Zellen aus dem Schwanz der Kaulquappen, Rattenspermatozoen = Spermogonien, Oberhautzellen aus dem Munde der Menschen u. a. m.

Alle diese Organismen fluoreszieren in sehr verschiedener Weise; *Chilodon* fluoresziert beispielsweise stärker als *Colpidium*, und selbst bei dieser letzten Ciliatenform liegen individuelle Unterschiede vor — bei einzelnen Infusorien bemerkt man sogar eine Fluoreszenz des Macronucleus und dessen Pseudocaryosoms, während in andern Fällen dieses Phänomen fehlen kann.

Im allgemeinen kann man drei Farbengruppen von Fluoreszenzerscheinungen unterscheiden:

I. Violette Fluoreszenz in verschiedenen Nuancen bis Blau:

- a. Auf diese Weise fluoreszieren die Oberflächenschichten der meisten Zellen: Amöben, *Colpidium*, *Vorticella*, *Paramaecium*, Zellen der Kaulquappen, Oberhautzellen der Menschen, besonders stark das Ectoderm der *Hydra viridis*.
- b. Kerne. Die Kerne der Infusorien fluoreszieren nicht immer gleich deutlich, oft sind sie kaum angedeutet. Bei *Vorticella* fluoreszieren im Kern besonders die zahlreichen platinartigen Einschlüsse. Deutlich fluoreszierte der Kopf des Rattenspermatozoons. Auch während der Teilung (*Colpidium*) sowie Conjugation (*Chilodon*, Macro- und Micronucleus) war eine gewisse Fluoreszenz der fraglichen Bestandteile nachweisbar.
- c. Die mehr apoplasmatischen Zellmembranen der Algen (*Spirogyra*), *Euglena*, ferner der Reußenapparat des *Chilodon*, teilweise die Membran der *Hydra*-Nesselkapseln, das Chitin der *Daphnia*, *Cyclops*-Arten, *Chironomus*-Larven u. a. m.

II. Blaßgrüne Fluoreszenz; diese ist von mir nur an der Eiweißumhül-

lung des Schneckenlaiches wahrgenommen worden, während der rotierende Embryo eine blaue Fluoreszenz zur Schau trug.

III. Rote Fluoreszenz, die besonders in prachtvollen Nuancen dem Chlorophyll und dessen Derivaten zukommt. Bei *Hydra viridis* müssen die die Chlorophyllfluoreszenz erregenden, mittleren roten Strahlen¹ noch von dem violettblau fluoreszierenden Ectoderm kommen und regen sodann eine schöne rote Fluoreszenz der Zoochlorellen an.

Auch das Diatomin der Diatomeen fluoresziert rötlich. Die rötliche Fluoreszenz des Darmes der Daphnien und Cyclopiden ist wohl auf die chlorophyllhaltige Nahrung zurückzuführen, sie ist durchaus nicht konstant und unterliegt gewissen Modifikationen. — Eigentümlicherweise fluoreszierten einzelne Nahrungsvacuolen des *Colpidium* rot, jedoch muß bemerkt werden, daß ein und dieselbe Vacuole je nach der Bewegung des Tieres bald rötlich aufleuchtete, bald nur bläulich glänzte — nach den Untersuchungen von Nirenstein wird der Inhalt der Vacuole durch eine schleimartige Substanz zusammengehalten, von deren Konsistenz wohl dieses auffällige Phänomen abhängig ist. Gleichzeitig möchte ich hervorheben, daß auch gewisse Bakterien der Infusionen rot fluoreszierten. Auffallenderweise besitzen im Gegensatz zu den Leucocyten die roten Blutzellen, ebenso wie die Blutparasiten, nur eine geringe Membranfluoreszenz (Trypanosomen). Der Periplast der Trypanosomen sowie der Kulturflagellaten fluoresziert nur sehr wenig, die eventuell vorhandenen Fetttropfen fallen durch ihren Eigenglanz auf. Die Hühnerspirochaeten konnte ich in dem Gesichtsfeld gar nicht wahrnehmen. Für sehr kleine Objekte scheint sich das Fluoreszenzmikroskop nicht zu eignen; im Blute gelbsüchtiger Raupen nahm ich nur violette, tanzende Körnchen und die lichtbrechenden, wenig fluoreszierenden Polyeder wahr. Herr Dr. Schilling stellte mir ein Präparat mit Kurloff-Körpern des Meerschweinchens zur Verfügung — auch in diesem konnte ich mit dem Fluoreszenzmikroskop keine neuen Strukturdetails beobachten.

Bei dem Arbeiten mit dem Fluoreszenzmikroskop, bei dem das Prinzip des Dunkelfeldes mit den Erscheinungen der Fluoreszenz kombiniert wird, wird sehr oft die Fluoreszenz von dem Glanz der Einschlüsse (Fett, Kristalle usw.) verdeckt, zumal absterbende Zellen unter dem Einfluß der Cavulation, der tropfigen Entmischung und Gerinnung stark zu glänzen anfangen. Sowohl in dieser Hinsicht, als auch in bezug auf eine künftige Bewertung der verschiedenen Fluoreszenznuancen dürften uns die Hygat- und Enixantosgläser der Firma Roden-

¹ Müller-Pouille's, Lehrbuch der Physik 1897. II. Bd. S. 361.

stock (München) gute Dienste leisten, indem man der Reihe nach durch einen Satz solcher Gläser (Enixantos 6 Stufen, Hygat 3 Stufen) das Fluoreszenzbild betrachtet, wobei hintereinander verschiedene Farbtöne ausgeschaltet werden und manche Strukturdetails klarer zum Vorschein kommen. Die ultravioletten Strahlen werden durch diese Gläser vernichtet — in dem eigentlichen Fluoreszenzlicht dürfen wir diese überhaupt nicht erwarten, da nach der Stokesschen Regel das Fluoreszenzlicht nie brechbarere Strahlen als das erregende Licht enthält, demnach treten in unserm Falle nur Farben von dem erregenden Ultraviolett ab gegen das rote Ende des Spektrums auf. Hygatgläser Nr. III absorbieren die meisten Strahlen des Fluoreszenzbildes, dasselbe gilt von den Enixantogläsern V und VI, die es fast vollständig zum Auslöschen bringen.

Die Fluoreszenzerscheinungen tauchten besonders an den Grenzschichten der untersuchten Zellen auf; sehr deutlich waren sie in den ectoplasmatischen Schichten, weniger deutlich an der Oberfläche des Kernes (nicht immer) wahrzunehmen. Die contractilen Vacuolen waren fluoreszenzlos, die Nahrungsvacuolen zeichneten sich durch starken Eigenglanz aus. Die bei verschiedenen Verletzungen, Druck und andern Schädigungen entstehenden hernienartigen Blasen des zerfließenden Protoplasmas, das von einer Niederschlagsmembran umhüllt wird, fluoreszierten nur sehr schwach (Äthereinfluß, Zitronensäure 1 : 10000), stärker kam dieselbe Fluoreszenz bei *Chilodon* unter Eosineinfluß zum Vorschein.

Zunächst wäre man geneigt, im Anschluß an die bekannte Theorie von Overton-Meyer, die trotz der Einwände von Ruhland, Czapek u. a. m. nicht vollkommen (Höber) erledigt zu sein scheint, die Fluoreszenz der Grenzschichten etwa aus dem Lipoidgehalt dieser Zellterritorien zu erklären, zumal Lecithin deutlich fluoresziert. Wird nämlich Lecithin Marke »Agfa« im Wasser zerrieben, so erscheint der Grund eines aus dieser Emulsion hergestellten Präparates bläulich, hier und dort tauchen violette Kugeln auf, an vielen Stellen nimmt man lichtgrüne Schlieren wahr. Die Marke »Ovolecithin«, vor allem aber Lec. purissimum zeigen eine mehr gleichmäßige Fluoreszenz. — Gegen die eben angeführte Annahme sprechen jedoch folgende Versuche: Weder 1 %iges Saponin noch Äther sowie Aceton vernichten die Fluoreszenz vollständig, im letzteren Falle wird außerdem die Pellicula wohl infolge der Flüssigkeitsentziehung abgehoben. Benzol vernichtet zunächst nicht die charakteristische violette Färbung, sie wird nur undeutlicher, und nach einer halben Stunde sehen die Infusorien infolge von andern Entmischungsprozessen trübe-milchig aus.

Unsre nächste Aufgabe bestand darin, in die Zelle Stoffe ver-

schiedener Art, ohne Rücksicht darauf, ob es Farbstoffe oder farblose Pharmaka sind, einzubringen in der Voraussetzung, daß diese, bestimmten Verteilungsgesetzen folgend, sich unter Umständen in gewissen Funktionsträgern der Zelle ansammeln und so im Dunkel-
feld des Fluoreszenzmikroskopes die Partialfunktionen der Zelle gleichsam illuminieren.

In diesem Sinne sind Vitalfarbstoffe, fluoreszierende Stoffe und verschiedene Fixierungsmittel angewendet worden. Colpidien wurden durch 2 Stunden mit Neutralrot, Methylenblau (medizinale) und Azur (in Wasser gelöst) in der Verdünnung von 1 : 200000 vorbehandelt; von diesen Farbstoffen verstärkte nur das Neutralrot die Fluoreszenz, die dann aus der Tiefe der Zelle zu kommen schien. Dieselben Ciliaten wurden mit Fluorescein 1½ Stunde in Lösungen von 1 : 2000, 1 : 20000 und 1 : 200000 im Dunklen vorbehandelt; die Körper der Ciliaten fluoreszierten in einem stumpfvioletten Farbenton in absteigender Folge. Extrakte ligni guajaci 1 % hatten keine Änderung der Farbenercheinungen zur Folge. Bei Eosin 1 : 10000 (im Dunklen vorbehandelt) wird die Fluoreszenz deutlich verstärkt, die Peripherie ist dunkelviolet, der Kern lichtblau, die contractile Vacuole schwarz, die Zufießungshernien sehen eigenartig »samschwarz« aus. Im Vorderende der Zelle nimmt man bläuliche Körperchen wahr, deren Zahl bei dem Absterben der Zelle unter Einfluß des Lichtes (vgl. Tappeiner, Über die Wirkung der photodynamischen Substanzen, Verhandl. XXI. Kongresses f. Innere Med. Leipzig 1904) zunimmt — sie führen um den Kern der geblähten, abgerundeten Zelle einen lebhaften Molekulantanz auf.

Durch ½ % iges Atropin wurden die Colpidienzellen entspannt, die sich bildenden Cavula fluoreszierten mattlila (vgl. Saponin) und traten in dünnen Schlieren aus der zerplatzten Pellicula hervor.

Chinin 1 : 10000 verstärkt etwas die Fluoreszenz der Zelle, die durch Enixantogläser IV betrachtet satter gefärbt aussehen, stärkere Chininkonzentrationen bringen die Zellen bald zum Absterben, worauf diese lichtbrechender werden und die Fluoreszenz teilweise einbüßen. Im Anschluß an frühere Versuche, nach denen Säuren die Chininwirkung unter bestimmten Umständen (vgl. Moldovan, Bioch. Zeitschr. 1912) beeinträchtigen, Alkalien sie stets erhöhen, wurden Colpidien mit Zitronensäure 1 : 10000 und Natrium bicarbonicum 1 : 10000 vorbehandelt. Unter der Alkaliwirkung schien die Oberfläche lebhafter zu fluoreszieren, vor allem wurden die Basalkörper und Cilien durch das Fluoreszenzlicht deutlich sichtbar gemacht. Bei Zusatz von Chinin wurden die Zellen sofort abgetötet, worauf der früher unsichtbare Kern im deutlichen Fluoreszenzlicht erstrahlte. Bei der Kombination Zitronensäure 1 : 10000 + Chinin 1 : 1000 wurde die Fluo-

rescenz der Tiere nicht wesentlich verändert, immerhin lebten sie, wenn auch nicht in allen Fällen, länger als die Infusorien, die vorher mit Alkali vorbehandelt waren.

Schließlich wurde der Einfluß verschiedener Fixierungsmittel auf die Fluorescenzwirkung der Zellen untersucht. Der Reihenfolge nach wurden 80 % iger Alkohol, Sublimat (konz.), Formol, Osmium 2 % ig, Pikrinsäure, Kaliumbichromat 4 % ig, Kaliumbichromat 4 % ig + Formol 10 % ig, Jodtinktur angewendet.

Die Fluorescenz des Körpers und Kernes blieb bei konz. Sublimat gut, weniger gut bei 2 % iger Osmiumfixierung erhalten, büßte nur etwas von ihrem lebhaften, transparenten Ton ein. Die Fluorescenz wurde durch Pikrinsäure und Jodtinktur aufgehoben, im ersten Falle waren die Colpidien leuchtend gelb, im letzteren Falle braun gefärbt. Wurde die Pikrinsäure durch 70 % igen Alkohol oder das Jod durch Natriumthiosulfat 0,5 % und Wasser sowie 70 % iger Alkohol ausgewaschen, so kehrte die Fluorescenz teilweise wieder zurück. Werden Colpidien bei 50° C abgetötet, so blaßt die typische Färbung etwas ab, bei 100° C sehen sie milchblau aus. — Die Fluorescenz bleibt demnach teilweise noch an den fixierten Zellen haften, sie kann jedoch schwinden, solange in der Zellsubstanz gewisse Stoffe (Pikrinsäure, Jod) gelöst sind, taucht aber, sofern diese nicht an die »Faser« fixiert sind (technischer Ausdruck der Farbenchemiker) und in der Folge ausgezogen werden, wiederum auf.

Das Arbeiten mit dem Fluorescenzmikroskop ist für die Augen ziemlich anstrengend, und es bedarf einer großen Übung, um für eine ersprißliche Beurteilung die einzelnen Fluorescenznuancen unterscheiden zu lernen — aus diesem Grunde möchte ich zunächst von weitgehenden Schlüssen absehen und vorläufig die Fachgenossen nur auf die interessanten optischen Phänomene aufmerksam machen. Durch Einführung von verschiedenen Stoffen in die Zelle kann man anscheinend die Fluorescenz erhöhen oder vernichten, und so besonders unter Zuhilfenahme der erwähnten Gläser in lebenden Zellen Farbdifferenzen hervorrufen, die den Farbeffekten fixierter und gefärbter Zellen analog sind.

4. Die Bedeutung der Encystierung bei *Stylonychia pustulata* Ehrbg.

Von X. Fermor, St. Petersburg.

(Mit 4 Figuren.)

eingeg. 16. Juni 1913.

Stylonychia pustulata gehört zu denjenigen Infusorien, bei denen sehr leicht die Bildung von Cysten hervorgerufen werden kann. Man

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zoologischer Anzeiger](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [42](#)

Autor(en)/Author(s): Prowazek Stanislaus von

Artikel/Article: [Fluoreszenz der Zellen. — Reicherts
Fluoreszenzmikroskop. 374-380](#)