

WYDZIAŁY POLITECHNICZNE KRAKÓW

BIBLIOTEKA GŁÓWNA



L. inw.

3559

ÜHRUNG

IN DAS

MIKROSKOPIEREN

VON

W. DIERKS

IN RINTELN

MIT 34 ABBILDUNGEN

BERLIN 1912

Union Deutsche Verlagsgesellschaft Berlin, Leipzig, Stuttgart
Abteilung Dürrscher Seminarverlag

573536
241053

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



10000294350

EINFÜHRUNG
IN DAS
MIKROSKOPIEREN

VON

W. DIERKS

IN RINTELN

MIT 34 ABBILDUNGEN

BERLIN 1912

Union Deutsche Verlagsgesellschaft Berlin, Leipzig, Stuttgart
Abteilung Dürrscher Seminarverlag

W. D.

BIBLIOTEKA POLITECHNICZNA
KRAKÓW

II 3559

Druck der Union Deutsche Verlagsgesellschaft in Stuttgart

Akc. Nr. 4142 / 49

Vorwort.

Das vorliegende Buch ist aus den Anweisungen zum Gebrauch des Mikroskops für meine Schüler hervorgegangen. Nur der erste Teil der Übungen ist natürlich von sämtlichen Schülern erledigt worden; sie waren danach imstande, alle einfachen, im naturkundlichen Unterricht vorkommenden mikroskopischen Übungen selbständig ausführen zu können. Die weitergehenden Verrichtungen, z. B. Zeichnen mit dem Zeichenapparat, Schneiden mit dem Mikrotom usw., wurden nur von einzelnen, besonders dafür befähigten Schülern erlernt.

Benutzt wurden Mikroskope System IV von Leitz-Wetzlar (Fig. 1). Die grobe Einstellung geschieht dabei durch Verschiebung des Tubus. Neuerdings nimmt man auch für Schülerübungen lieber solche Stative, bei denen diese Einstellung durch Zahn und Trieb erfolgt (Fig. 2). Ich persönlich halte die erste Art für diesen Zweck für praktischer. Über den Gebrauch der anderen Einstellung belehrt S. 68 f.

In den ersten Übungen sind die Nummern von Objekt und Okular angegeben, die verwendet werden sollen. Wer ein Instrument einer anderen Firma benutzt, wird nach der folgenden Vergrößerungstabelle leicht die entsprechenden Gläser einsetzen können:

Objektiv	Vergrößerung mit Okular	
	I	III
3	51	82
7	290	465

Ich hoffe, daß das Buch auch dem Dienste erweisen kann, der nach einer Anleitung für den Selbstunterricht sucht. Die Übungen sind so ausgewählt, daß sie zu jeder Zeit begonnen werden können; daher mußte das Schneiden eines flachen Gebildes zwischen Holundermark auf das Teeblatt beschränkt werden. Selbstverständlich wird man das Schneiden auch an frischen Blättern üben, falls es die Jahreszeit gestattet.

Für den Anfänger, der auf sich selbst angewiesen ist, gebe ich hier noch einige praktische Winke. Beim Kauf des Instrumentes ist zu bedenken, daß das Stativ für immer ausreichen soll, die optische Ausrüstung aber stets ergänzt werden kann. Man wähle also ein gutes

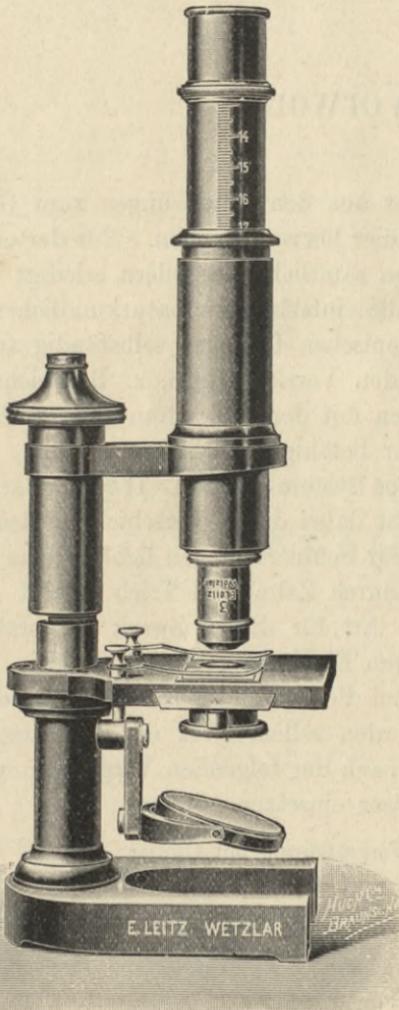


Fig. 1. Stativ IV von Leitz.

Stativ (z. B. Leitz C, Fig. 3) und spare lieber zuerst an Objektiven und Okularen. Da die Okulare nur das von den Objektiven entworfene Bild vergrößern, suche man auch nicht starke Vergrößerungen mit Okularen zu erreichen; in diesen Fehler verfällt man leicht, da die starken Objektive verhältnismäßig sehr teuer, die stärkeren Okulare aber kaum teurer als die schwächeren sind. Selbst prüfen kann der Anfänger sein Instrument nicht; wenn er keinen guten Berater hat, ist das einzige Mittel, sicher in den Besitz eines guten Instrumentes zu gelangen, sich an eine Fabrik zu wenden, deren Weltruf für gute Lieferung bürgt. Ich empfehle die Optischen Werke von E. Leitz-Wetzlar; die bedeutendste Firma ist Zeiß-Jena, die Preise sind natürlich hoch; außerdem nenne ich noch Winckler-Göttingen. Es soll damit nicht gesagt werden,

daß man nicht auch bei einer Reihe anderer Firmen gut bedient würde, doch warne ich noch einmal ausdrücklich davor, zu glauben, ein Mikroskop sei auch schon gut, wenn es nur den entsprechenden Preis kostet. Wer Mitglied des Kosmos ist, bekommt auch dort (Frankh'sche Verlagshandlung, Stuttgart) ein preiswertes Mikro-

skop. Als optische Ausrüstung wähle man die vorhin genannten Teile, dazu kann (auch später) eine Ölimmersion treten (S. 67 f.).

Zur Lieferung der Farbstoffe und Reagenzien empfehle ich Merck-Darmstadt (man bezieht sie durch den Drogenhändler oder Apotheker, indem man zu der Bestellung die Forderung „Verpackung Merck“ hinzufügt) und Grübler & Co.-Leipzig. Uhrgläser, Farbstoffflaschen (auch Objektträger und Deckgläser) bezieht man preiswert von E. Leybolds Nachf.-Köln a. Rh. Deckgläser und Objektträger: Leitz-Wetzlar. Aufbewahrungsmappen: Jung-Heidelberg, Leybold-Köln, Th. Schröter-Leipzig.

Die Figuren dieses Buches wurden teilweise neu gezeichnet (Fig. 7, 8, 9, 15, 18, 22, 23, 26, 28, 29, 30), teilweise anderen Werken entnommen: Sachs, Strasburger (Fig. 31), Kükenthal (Fig. 32), für einige stellten die Firmen Leitz, Jung und Seibert die Klischees freundlichst zur Verfügung.

Als weitergehende Literatur ist zu empfehlen:

Hager-Mez, Das Mikroskop und seine Anwendung. Springer-Berlin. Preis 12,50 M.

Böhm und Oppel, Taschenbuch der mikroskopischen Technik. Oldenbourg-München. (Wirbeltiere.) Preis 5,60 M.

Lee und Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen. Friedländer & Sohn-Berlin. Preis 16 M.

Strasburger, Das kleine botanische Praktikum. Fischer-Jena. Preis 7 M.

Ders., Das botanische Praktikum. Ebd. Preis 22,50 M.

Meyer, Praktikum der bakteriellen Bakterienkunde. Ebd. Preis 5,20 M.

Rinteln am Totensonntag 1911.

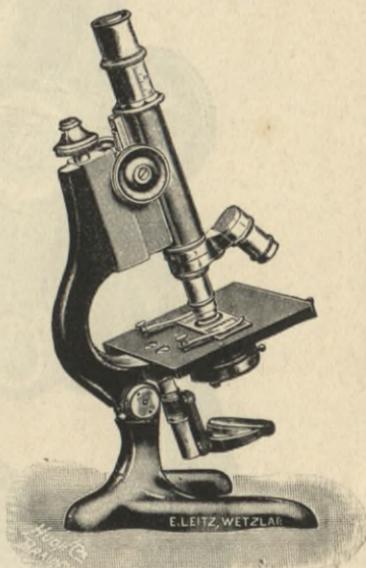


Fig. 2. Schulstativ von Leitz

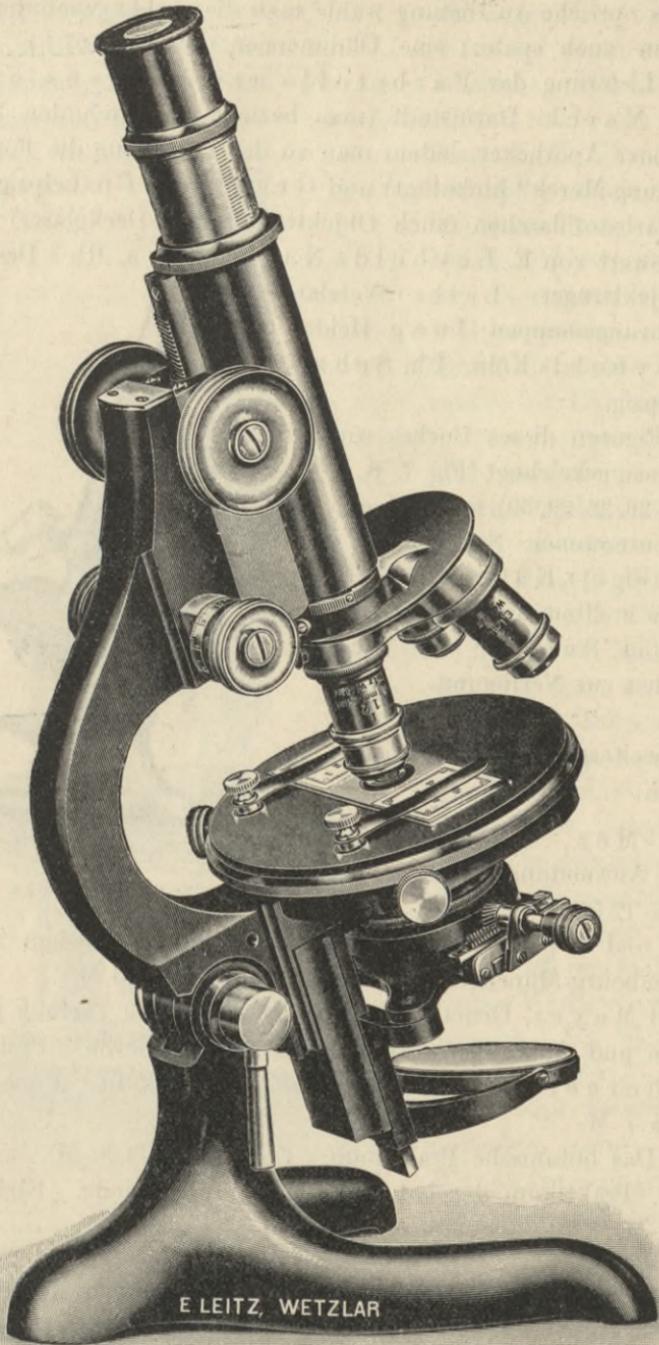


Fig. 3. Stativ C von Leitz.

Inhaltsverzeichnis.

Vorwort	Seite 3
-------------------	------------

Erster Teil: Übungen.

1. Das Mikroskop	9
Objektträger, Deckgläser	10
2. Das Einstellen der Objekte	11
Das Sehen in das Mikroskop	12
3. Luftblasen im Präparat	13
4. Öltropfen in einem dünneren Mittel	15
5. Ein Glasstab in Wasser und in Schwefelkohlenstoff	15
6. Stärkekörner der Kartoffel	16
7. Das Zeichnen mikroskopischer Präparate	17
8. Reaktionen der Stärke	20
9. Mikrochemische Reaktionen der Baumwolle	21
10. Rote Blutkörperchen	22
11. Hexenmehl	24
12. Tabakblätter	25
13. Kristalle in der Knoblauchzwiebel	28
14. Schneiden mit dem Rasiermesser	29
15. Die weiße Zuckerrübe	32
16. Herstellung eines Glycerindauerpräparates	35
17. Die Kartoffelknolle. Verkorkung	37
18. Der Samen der Erbse	39
19. Einschluß in Kanadabalsam und Terpentin	41
20. Das Roggenkorn	43
21. Der Samen des Rizinusbaumes	46
22. Die Nadel der Kiefer	49
23. Der Zeichenapparat nach Abbe	50
24. Zimtpulver	52
25. Die Wurzel der Gartenzwiebel	53
26. Das Blatt des Tees	54
27. Das Holz der Kiefer	56
28. Mazeration des Kiefernholzes	59
29. Epithelzellen vom Säugetierdarm	60
30. Quergestreifte Muskeln	61
31. Ganglienzellen	64
32. Herstellung eines Präparates aus den Bakterien des Zahnschleims	65
33. Beleuchtungsapparat. Immersion	67

	Seite
34. Untersuchung des Bakterienpräparates aus dem Zahnschleim	69
Frischer Zustand	70
35. Der Heubazillus	71
36. Bakterienkulturen	75
1. Sterilisieren von Glasgefäßen	75
2. Sterilisieren von Möhrenscheiben	75
3. Nährlösung	75
4. Nähragar	75
5. Agarröhrchen	76
6. Gewinnen von Bakterien auf einer Möhre	76
7. Impfen der Möhrenscheibe	76
8. Isolieren von Bakterien	76
9. Strich- und Stichkulturen	77
37. Das Mikrotom	77
38. Knorpelgewebe	80
39. Zähne der Wirbeltiere	83
40. Die Leber des Schweins	84
41. Querschnitte durch das Rückenmark	86
42. Silberimprägation	88
43. Das Einbetten eines Objektes in Paraffin	89
44. Das Schneiden des in Paraffin eingebetteten Objektes	92
45. Die Weiterbehandlung der losen Paraffinschnitte	94
46. Herstellung und Weiterbehandlung von Schnittserien. Kernteilung	95
47. Querschnitte durch den Bluteigel	101
48. Dünnschliff vom Basalt	103
49. Herstellung eines Knochenschliffes	105

Zweiter Teil: Systematische Übersicht.

1. Das Mikroskop	107
2. Utensilien zur Fertigstellung der Präparate	108
3. Instrumente zur Herstellung von Präparaten	108
4. Fixieren und Härten	109
5. Mazerieren	112
6. Entkalken	112
7. Entkieseln	112
8. Bleichen	112
9. Durchtränkung	113
10. Einbetten	113
11. Weiterbehandlung der Schnitte	114
12. Färben	115
13. Reagenzien	117
14. Einschlußmittel	119
15. Dauerpräparate	120
Aufbewahren der Dauerpräparate	120
16. Kultivieren von Mikroorganismen	120
17. Töten und Betäuben eines kleineren Tieres zwecks Präparation	121
18. Untersuchung lebender Organismen	122

Erster Teil.

Übungen.

1. Das Mikroskop.

Das Stativ des Mikroskops ruht unten auf einer Fußplatte, die gewöhnlich hufeisenförmig ist und mit drei Punkten die Unterlage berührt. Dadurch wird erreicht, daß der Apparat feststeht. An dem Fuße ist die Säule befestigt, an der sich die anderen Teile befinden.

In einer Hülse an der Säule läßt sich der Tubus auf und ab bewegen. Er ist ausziehbar. Wir stellen ihn beim Mikroskopieren stets auf die Zahl 17 ein, dann hat er eine Länge von 170 mm. (Die geeignete Länge wird von der Fabrik stets angegeben.)

Etwas in der Mitte der Säule ist der Objektisch befestigt, der unter dem Tubus durchbohrt ist. In die Durchbohrung lassen sich Blendvorrichtungen einsetzen, um sie zu verkleinern. Entweder können durchlöchernte Scheiben eingeklemmt werden, oder eine größere Scheibe mit verschiedenen großen Öffnungen ist so befestigt, daß durch Drehen ihre Öffnungen in die Mitte der Tischöffnung gelangen. Manche Mikroskope besitzen eine sogenannte Irisblende. Übereinandergelegte, gekrümmte Blechscheiben lassen sich mittels eines Handgriffes so verschieben, daß die Öffnung zwischen ihnen weiter und enger wird. Der Objektisch ist auf der Oberseite mattschwarz.

Unter dem Tisch befindet sich der Spiegel, der sowohl in der Achse des Tubus als auch außerhalb dieser um zwei Achsen gedreht werden kann, die senkrecht zueinander stehen. In der Spiegelfassung sitzen zwei Spiegel, ein Plan- und ein Hohlspiegel.

Wir stellen das Mikroskop auf einen feststehenden Tisch in der Nähe des Fensters und drehen den Hohlspiegel so, daß die Tubusachse durch seinen Mittelpunkt geht. Jetzt sehen wir von oben in den Tubus und drehen den Spiegel so lange, bis wir den hellsten Schein wahrnehmen.

Den Tubus bewegen wir in seiner Hülse, indem wir stets rechts herum drehen und dabei entweder drücken oder ziehen. Außerdem ist

er durch die Mikrometerschraube bewegbar, die hier am Kopfe der Säule sitzt, manchmal aber auch unten angebracht ist. Wir drehen die Schraube nach links, bis der Tubus nicht mehr gehoben wird. (Nicht weiterdrehen!) Dann ist zu erkennen, daß die Mikrometerschraube den Tubus nur etwa 1 cm zu heben vermag. Beim Beginn des Mikroskopierens stellen wir die Schraube stets so, daß sie nach beiden Seiten gleichen Spielraum hat.

Nun ziehen wir den Tubus vollständig aus der Röhre heraus (rechts drehend!) und schrauben am unteren Ende ein Objektiv an, indem wir das Objektiv über den Tubus halten und den Tubus drehen. Nachdem der Tubus wieder eingesetzt ist, wird ein Okular in das obere Ende geschoben. Vor und nach dem Gebrauch werden die Linsen des Objektivs und des Okulars außen mit reiner Watte abgerieben. Sie dürfen aber nicht auseinandergeschraubt werden.

Zur Herstellung eines Präparates haben wir einen Objektträger und ein Deckglas nötig. Die Objektträger sind rechtwinklige Platten aus weißem, blasenfreiem Glase, die eine Dicke von 0,5—1,0 mm haben. Nach der Größe unterscheidet man Gießener Format (48 mm × 28 mm), Leipziger Format (70 mm × 35 mm) und englisches oder internationales Format (76 mm × 26 mm). Wir verwenden das „englische“ Format, das am häufigsten gebraucht wird. Sind die Kanten der Gläser abgeschliffen, so sind diese mindestens doppelt so teuer.

Neue, noch ungebrauchte Gläser reinigen wir auf folgende Weise. Wir tauchen sie in eine starke Säure (konzentrierte Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Chromsäure), spülen sie darauf mit Wasser gut ab, bringen sie kurze Zeit in Alkohol von 90 % und reiben sie mit einem reinen Tuche trocken. Schon gebrauchte Gläser werden in Wasser getaucht und trocken gerieben. Zum Abreiben verwenden wir ein Tuch von altem Leinen oder ein Fensterleder. Das Taschentuch darf nicht verwendet werden, insbesondere nicht, wenn die Kanten des Objektträgers nicht geschliffen sind.

Die Deckgläser sind dünne Gläschen zum Bedecken der Objekte. Ihre Dicke muß 0,15—0,18 mm betragen, dickere sind für stärkere Vergrößerungen unbrauchbar. (Die Firmen, die Mikroskope liefern, geben an, für welche Dicke ihre Objektive justiert sind.) Das Format ist verschieden: quadratisch, rechteckig, rund. Am handlichsten und für fast alle Zwecke ausreichend, sind die 18 qmm messenden Deckgläser¹⁾.

Sie werden gereinigt wie die Objektträger; besondere Vorsicht ist

¹⁾ Für den Anfang empfehle ich aber Deckgläser von 15 qmm, da sie nicht so leicht zerbrechen.

beim Abreiben nötig, da sie äußerst leicht zerbrechen. Wir benutzen einen kleinen leinenen Lappen und reiben das Glas darin zwischen den Spitzen des Daumens und des Zeigefingers.

2. Das Einstellen der Objekte.

Dem Mikroskop wird ein Probeobjekt (Testobjekt) beigegeben, an ihm wollen wir das Einstellen üben. Am häufigsten dient die Kieselschale der Diatomee *Pleurosigma angulatum* als Probeobjekt.

Nachdem wir das Mikroskop am richtigen Platze aufgestellt haben, schrauben wir das Objektiv 3 an den Tubus und fügen dann das Okular I ein. Den Objektträger legen wir quer zu uns auf den Objektstisch, so daß seine Kanten den Seiten des Tisches parallel laufen. Das an dem Lackring kenntliche Deckglas muß stets nach oben liegen. Die Klammern auf dem Objektstische entfernen wir vorläufig.

Nachdem das Präparat genau über die Objektstischöffnung geschoben ist, bewegen wir den Tubus langsam (rechts drehend!) nach unten und sehen dabei seitwärts zwischen Objektträger und Objektiv hindurch. Wenn sich beide bis auf 0,5 mm genähert haben, hören wir mit der Bewegung auf. Nun sehen wir mit dem linken Auge in das Okular, schließen das rechte aber nicht, und ziehen den Tubus (rechts drehend) ganz langsam hoch, bis wir ein deutliches Bild erkennen, dann hören wir sofort auf mit Drehen. Wir verschieben den Objektträger langsam ein wenig, bis ein schönes Exemplar der Diatomee im Mittelpunkt des Gesichtsfeldes liegt. Dabei bemerken wir, daß die Bewegungen des Bildes denen des Objektes entgegengesetzt sind. Wir schätzen die Größe des Abstandes des Objektivs vom Deckglas und merken ihn uns für später, da er für dasselbe Objektiv stets derselbe bleibt.

Jetzt ist die grobe Einstellung mittels Tubusverschiebung vollendet. Zur feinen Einstellung — und nur zu dieser — dient die Mikrometerschraube. Eine geringe Bewegung nach links oder rechts genügt, um die deutlichste Einstellung zu erlangen. Wir drehen die Blendscheibe, so daß die Öffnung des Objektstisches verschiedene Größe annimmt. Bei dieser geringen Vergrößerung bemerken wir keinen großen Unterschied in der Wirkung.

Um die richtige Beleuchtung auch zu finden, wenn Objektiv und Okular eingesetzt sind, entfernen wir den Spiegel aus seiner Lage, lassen ihn aber so stehen, daß die Tubusachse durch seinen Mittelpunkt geht. Dann sehen wir in das Mikroskop und bewegen den Spiegel so lange, bis dieselbe Helligkeit des Bildes wie vorhin erreicht ist.

Wir achten bei der Diatomee auf das helle Viereck in der Mitte. Nachdem wir das Okular I durch das Okular III ersetzt haben, suchen wir es wieder auf.

Nach dem Wechsel der Okulare ist die Einstellung des Objektes sofort vollbracht, da die meisten Fabrikanten ihre Okulare so hergestellt haben, daß höchstens eine feine Einstellung nötig wird.

Wir nehmen das Okular heraus (bringen es in seinen Kasten und stellen es nicht etwa auf den Tisch!) und ziehen den Tubus langsam aus seiner Hülse. Das Objektiv schrauben wir los, indem wir es mit einer Hand fassen und mit der anderen den Tubus drehen, der sich wieder unter dem Objektiv befindet.

Nachdem das Objektiv 7 angeschraubt ist, wird wie vorhin zuerst grob (durch Tubusverschiebung), dann fein (Mikrometerschraube) eingestellt. Äußerlich fällt auf, daß sich die Objektivlinse dem Deckglas viel näher befindet als beim Objektiv 3. Wegen dieser gefährlichen Nähe gilt es für uns als strenge Regel, die grobe Einstellung nur durch Aufwärtsbewegen des Tubus zu vollbringen. Ist er zu hoch gehoben, so wird er wieder nach unten bewegt, indem man gleichzeitig von außen zwischen Deckglas und Linse hindurchsieht. Im anderen Falle könnten leicht Deckglas und Objekt, ja auch die Objektivlinse zerstört werden. Nachdem wir Okular I eingesetzt haben, fällt uns bei der Betrachtung zunächst zweierlei auf: 1. das Feld ist weniger stark beleuchtet, 2. wir überblicken ein viel kleineres Gebiet.

Wir suchen jetzt das Aussehen der Diatomeenschale zu ergründen. Es finden sich auf ihr drei Streifensysteme. Zwei von ihnen schneiden sich unter einem Winkel von ungefähr 58° und stoßen unter spitzen, einander gleichen Winkeln auf die Mittelrippe; die dritten Streifen stehen senkrecht zu dieser.

Bei der Untersuchung benutzen wir die Mikrometerschraube, die wir wenig drehen. Wir können nur immer auf eine Ebene genau einstellen, bei mehr als 300facher Vergrößerung ist die Tiefenausdehnung der Diatomee aber schon bedeutend. Das gilt für alle Objekte, daher machen wir es uns zur Regel: Beim Mikroskopieren bleibt die Hand stets an der Mikrometerschraube.

Das Sehen in das Mikroskop. Wir haben uns bemüht, das unbeschäftigte Auge offen zu lassen. Dieses gelingt nicht immer sofort, ist aber unbedingt erforderlich. Denn dadurch, daß das eine Auge zugekniffen wird, wird ein Druck auf den Augapfel ausgeübt, wodurch ein Schmerzgefühl entsteht, das auch auf das arbeitende Auge übergeht. Das zweite Auge ist später auch bei manchen Tätigkeiten, insbesondere beim

Zeichnen nötig. Man gewöhnt am besten beide Augen an das Mikroskopieren. Zuerst werden die mit dem zweiten Auge aufgenommenen Bilder störend in das mikroskopische Bild eingreifen; man kann dann das Auge mit der Hand bedecken, ohne es zuzukneifen. Wenn die ganze Aufmerksamkeit auf das Bild im Mikroskop konzentriert ist, zieht man die Hand weg und gewöhnt sich so allmählich daran, die vom zweiten Auge aufgenommenen Bilder vom Bewußtsein auszuschalten.

Vermeiden muß man, daß direktes Sonnenlicht in das Mikroskop fällt, da es die Augen schädigen würde. Überhaupt werden wir später sehen, daß die hellste Beleuchtung des Gesichtsfeldes nicht immer die günstigste ist.

Manchmal ziehen schlingenförmige oder perlschnurartige Gebilde durch das Gesichtsfeld, die wir nicht mit dem Objekt verwechseln dürfen; sie entstehen durch das Auge. Dieses „Mückensehen“ wird durch schleimige Absonderungen hervorgerufen. Gewöhnlich hilft kurze Unterbrechung des Mikroskopierens, sonst kann man das Auge mit warmem Wasser auswaschen.

3. Luftblasen im Präparat.

Auf einen gut gereinigten Objektträger bringen wir mit einem Glasstab einen Tropfen flüssigen Leim. Wir können auch ein Gemisch aus 1 g reinem arabischen Gummi und 4 ccm Wasser verwenden. Damit der Tropfen in die Mitte des Objektträgers kommt, zeichnen wir den Umriß auf ein weißes Blatt Papier und ziehen in diesem Rechteck die Diagonalen. Bei der Herstellung eines Präparates können wir den Objektträger auf diese Unterlage legen.

Den Tropfen Gummilösung schlagen wir mit einer Präpariernadel oder einem dünnen Draht, so daß viele kleine Luftblasen darin entstehen. Jetzt legen wir ein gereinigtes Deckglas auf. Das Glas würde die Luftblasen zerdrücken können, darum legen wir einen dünnen Glasstreifen, einen schmalen Streifen Pappe oder Stücke eines zerbrochenen Deckglases unter das Deckglas. Geeignete Streifen können wir auch aus Holundermark schneiden (siehe S. 32).

Statt dessen setzt man wohl Wachsfüßchen unter die vier Ecken des Deckglases. Weißes Wachs wird geschmolzen und mit $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ seines Gewichtes an venezianischem Terpentin verrührt. Aus dem erkalteten Gemisch werden etwa 1 ccm große Stückchen herausgeschnitten. An den vier Ecken wird je eines dieser Füßchen aufgesetzt, dann wird das Deckglas aufgelegt und vorsichtig soweit als nötig nach unten gedrückt, wobei man den Stiel der Präpariernadel vorteilhaft verwenden kann.

Diese Vorrichtungen wenden wir stets dort an, wo ein zartes Objekt vor dem Druck des Deckglases geschützt werden muß, oder wo ein verhältnismäßig dickes Objekt eingeschlossen werden soll.

Wir beobachten mit Objekt 3 und Okular I. Zunächst bewegen wir die Mikrometerschraube nach beiden Seiten so weit, daß die Luftblase eben verschwindet. Dann suchen wir die mittlere Einstellung herzustellen. Die Luftblasen erscheinen kreisrund und scharf abgegrenzt; der Rand ist tiefdunkel, die Mitte stark beleuchtet und vollständig klar. Nun senken wir den Tubus und beobachten gleichzeitig dabei. Der dunkle Rand wird immer breiter.

Nachdem wir eine Luftblase in den Mittelpunkt des Gesichtsfeldes gebracht haben, schrauben wir das Objektiv 7 an und stellen wieder ein. Bei der Beobachtung blenden wir mit der Hand des Licht ab, das von oben auf das Präparat fällt. Wir bemerken dann, daß dieses Licht das Bild ebenfalls beeinflussen kann; denn die hellen Reflexe aus dem Mittelpunkt des Bildes verschwinden.

Jetzt drehen wir den Spiegel und benutzen den Planspiegel statt des Hohlspiegels. Bei mittlerer Einstellung sehen wir wieder den dunklen Ring, der aber von hellen konzentrischen Kreisen unterbrochen wird. Beim Abblenden des Oberlichtes erscheinen außerhalb der dunklen Ringzone noch einige zarte konzentrische Kreise. Wenn wir den Tubus langsam nach unten bewegen, sehen wir konzentrische, farbige Streifen auftauchen.

Ursache der Erscheinungen. Die Luft ist für die Lichtstrahlen ein dünneres Medium als die Gummilösung. Die Lichtstrahlen, die also aus einem dichteren Medium in ein dünneres eintreten, werden so stark gebrochen, daß sie — mit Ausnahme derer im mittleren Teil — nicht mehr in das Objektiv gelangen, infolgedessen erscheinen diese Stellen dunkel. Beim Senken des Tubus wird eine tiefere Ebene eingestellt, aus der noch mehr Lichtstrahlen abgelenkt werden. Die konzentrischen Kreise in der dunklen Zone und die farbigen Streifen sind Interferenzerscheinungen.

Entfernung der Luftblasen aus einem Präparat. Luftblasen bilden sich häufig im Präparat; entweder haftete Luft am Glase oder geringe Mengen wurden vom Objekt festgehalten. Sie dürfen natürlich nicht mit dem Objekt verwechselt werden, weshalb man sich mit ihrem Aussehen vertraut machen muß. Sie können aber äußerst störend sein, darum suchen wir sie zu entfernen. Wenn es geschehen kann, ohne daß das Objekt leidet, so erhitzt man es auf dem Objektträger im großen Wassertropfen über einer Spirituslampe, bis Dampf-

blasen aufsteigen. Unter dem Rezipienten einer Luftpumpe sind die Luftblasen leicht zu vertreiben.

Das Leitungswasser enthält stets viel Luft. Beim Mikroskopieren verwenden wir daher Wasser, aus dem wir die Luft durch Kochen entfernt haben. In einer gut verkorkten Flasche kann es aufbewahrt werden.

Luftblasen in Dauerpräparaten. Erwähnt soll hier gleich werden, daß die Luftblasen, die bei der Herstellung von Dauerpräparaten im Balsam leicht entstehen, von selbst nach einiger Zeit verschwinden. Kommt es aber zur Bildung von Gasblasen, indem das Objekt — oft erst nach langer Zeit — Gas abscheidet, so sind die Präparate gewöhnlich verloren.

Manchmal ist es erwünscht, wenn sich eine Luftblase im Dauerpräparat vorfindet, die man deshalb wohl absichtlich hineinzubringen sucht (was aber in der Regel nicht gelingt!). Bei den Temperaturschwankungen wird das Einschlußmittel zusammengezogen und ausgedehnt. Wenn nun bei einem flüssig bleibenden Mittel ein Lackring gezogen ist, kann das Deckglas zertrümmert werden. Eine Luftblase dient zur Ausgleichung des Druckes.

4. Öltropfen in einem dünneren Mittel.

In flüssigen Leim oder in die Lösung von arabischem Gummi in Wasser bringen wir einen Tropfen Nelkenöl und schütteln tüchtig durch. Davon bringen wir mit dem Glasstab einen Tropfen auf den Objektträger und legen unter denselben Vorsichtsmaßregeln wie vorhin ein Deckglas auf.

Oder wir bringen einen Tropfen Leim auf den Objektträger und suchen mittels einer feinen, spitzen Nadel winzige Nelkenöltropfen hineinzubekommen.

Wir legen ein Deckglas auf und wenden dabei dieselben Vorsichtsmaßregeln gegen das Zerdrücken an wie in der vorigen Übung. Die erste Beobachtung erfolgt wieder mit Objektiv 3 und Okular I. Beim Heben des Tubus wird jetzt der Ring breiter; bei mittlerer Einstellung scheint der Tropfen von einer Membran umschlossen zu sein. Diese Erscheinung wird durch Interferenz hervorgerufen.

Nachdem wir einen Öltropfen in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht haben, schrauben wir wie vorhin ein stärkeres Objektiv an (7) und beobachten.

5. Ein Glasstab in Wasser und in Schwefelkohlenstoff.

Wir ziehen einen Glasstab in der Spiritusflamme zu einem dünnen Faden aus. Es ist auch möglich, den Faden durch Ausziehen einer

Glasröhre zu gewinnen, nur wird oft eine Öffnung in der Mitte verbleiben.

Dieser Glasstab mit dem Brechungsvermögen 1,5 soll im Wasser mit dem Brechungskoeffizienten 1,33 und im Schwefelkohlenstoff mit 1,63 untersucht werden.

Im schwächer lichtbrechenden Mittel. Auf einen gut gereinigten Objektträger bringen wir einen Tropfen Wasser und legen ein 0,5—1,0 cm langes Stück des Glasstabes hinein. Nachdem wir das Deckglas aufgelegt haben, bringen wir den Stab mit Hilfe des Objektivs 3 in die Mitte des Gesichtsfeldes und schrauben dann Objektiv 7 an.

Wir stellen tief ein. Der Stab erscheint dunkel auf hellerem Grunde.

Wir heben den Tubus mit der Mikrometerschraube. Der Stab wird heller und bei hoher Einstellung ist er heller als das übrige Sehfeld.

Im stärker lichtbrechenden Mittel. Wir stellen ein entsprechendes Präparat mit Schwefelkohlenstoff her.

Bei hoher Einstellung erscheint der Stab jetzt dunkler, bei tiefer aber heller als das übrige Sehfeld.

Ähnlich verhalten sich Vertiefungen und Erhöhungen auf einem Objekte, das in einem schwächer lichtbrechenden Mittel liegt. So läßt sich die Regel aufstellen:

Wenn ein Objekt beim Heben des Tubus seinen größten Glanz zeigt, so haben wir eine Erhabenheit vor uns;

zeigt sich der größte Glanz beim Senken des Tubus, so liegt eine Vertiefung vor.

Die Interferenzerscheinungen beobachten wir genauer und suchen sie nach den vorhergehenden Übungen zu erklären.

6. Stärkekörner der Kartoffel.

Von einer Kartoffel schneiden wir ein Stück ab und schaben mit dem Messer etwas an der Schnittfläche, wobei ein weißer Saft an der Klinge hängen bleibt.

Vorher haben wir einen Objektträger gut gereinigt. Jetzt bringen wir mit dem Glasstab in die Mitte einen Tropfen Wasser und in diesen ein wenig von der weißen Flüssigkeit an unserem Messer. Nachdem wir ein Deckglas aufgelegt haben, legen wir das Präparat unter das Mikroskop. Mit dem Objekt 3 und dem Okular I stellen wir kleine Körner im Gesichtsfelde fest und rücken ein geeignet erscheinendes in die Mitte des Gesichtsfeldes. Dann wird Objektiv 7 angeschraubt.

Die Körner erscheinen fast wasserhell. Deutlich erkennen wir ihre

elliptische Form. Langsam und vorsichtig bewegen wir den Objektträger, bis wir ein besonders deutlich erscheinendes Korn gefunden haben. Dann benutzen wir ausgiebig die Mikrometerschraube, indem wir langsam drehen. Wir erkennen dann, daß das Stärkekorn nicht gleichförmig gebaut ist. Es erscheint ein dunkler Punkt, der bei dem Stärkekorn der Kartoffel nicht im Mittelpunkt liegt. Diese Stelle muß weniger dicht sein wie die umgebende Masse des Kornes, da sie dunkler erscheint. Manchmal scheint sie auch etwas rötlich gefärbt zu sein.

Um diesen Kern herum lagert sich das Stärkekorn nicht gleichmäßig, sondern deutlich sind helle und dunkle Streifen sichtbar, die sich exzentrisch ausbreiten. Das Korn ist geschichtet; wasserreiche Schichten wechseln mit wasserärmeren ab.

An diesem Objekt wollen wir zunächst das Zeichnen mikroskopischer Bilder üben.

Da unser feuchtes Präparat also längere Zeit in Benutzung bleibt, ist es möglich, daß das Wasser unter dem Deckglas teilweise verdunstet. Wir müssen darauf

achten, ob dieses eintritt, um dann mit dem Glasstab etwas Wasser an den Rand des Deckglases auf den Objektträger übertragen zu können. Infolge der Kapillarität dringt es unter das Deckglas.

Beim Verdunsten der Einschlußflüssigkeit können empfindliche Objekte leicht zerdrückt werden, da die übrigbleibende Flüssigkeit den leeren Raum auszufüllen sucht (Kapillarität) und dabei das Deckglas ganz eng an den Objektträger zieht.

7. Das Zeichnen mikroskopischer Objekte.

Zweck. Wer etwas zeichnen will, was er vor sich sieht, ist gezwungen, es vorher genau anzuschauen. Wer Einzelheiten des mikroskopischen Objektes richtig zeichnet, muß sie vorher richtig erkannt haben. Ja, man kann behaupten: nur das ist auch wirklich gesehen worden, was gezeichnet wurde. Das Zeichnen mikroskopischer Objekte zwingt also zur deutlichen Beobachtung.

Durch das Zeichnen und das Vergleichen des entstandenen Bildes

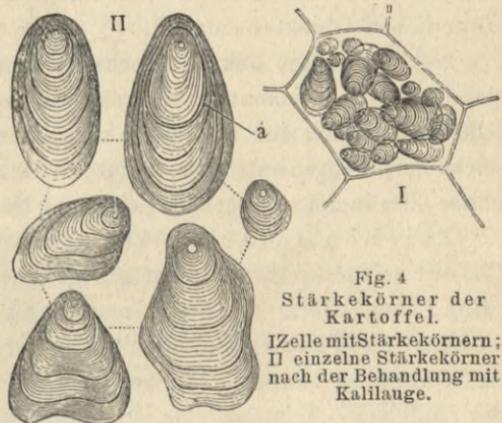


Fig. 4
Stärkekörner der
Kartoffel.
I Zelle mit Stärkekörnern;
II einzelne Stärkekörner
nach der Behandlung mit
Kalilauge.

mit dem Bild im Mikroskop verweilt das Auge bei den Einzelheiten, die dadurch besser eingeprägt werden. Dazu kommt, daß das Bild jetzt nicht nur mit dem Gesichtssinn, sondern auch mit dem Muskelsinn aufgefaßt wurde, wodurch das Einprägen ebenfalls gefördert wird.

Beim Mikroskopieren sieht man jeweils nur *e i n e E b e n e* deutlich; was darüber oder darunter liegt, sieht man erst, wenn man die Mikrometerschraube bewegt, wobei aber die erste Ebene verschwindet. Das mikroskopische Objekt sieht also anders aus als die einzelnen Bilder, aus denen erst ein Gesamtbild zusammengestellt werden muß. Dabei hilft die Zeichnung, in die nacheinander die Einzelheiten eingetragen werden, die in verschiedenen Ebenen sichtbar werden, wodurch allmählich ein Bild des körperlichen Objektes entsteht.

Nur wer selbst mikroskopische Zeichnungen angefertigt hat, ist imstande, fremde Zeichnungen mikroskopischer Objekte zu verstehen. Denn selbstverständlich sind auch diese zusammengestellt. Wer nicht weiß, wie solche Zeichnungen entstehen, könnte zu der Annahme verleitet werden, man müsse alles in der vorliegenden Zeichnung Dargestellte *a u f e i n m a l* sehen.

Zeichenmaterial. Zum Zeichnen verwenden wir einen *g u t e n* Bleistift mittlerer Härte. Sehr gut geeignet ist der *H a r d t m u t h*sche „Koh-i-noor“ Härte F. Dieser muß *s t e t s* scharf angespitzt sein. Ein *s c h a r f e s* Messer muß man immer bereit haben, um von Zeit zu Zeit nachspitzen zu können. Wir zeichnen auf Malkarton. Sehr geeignet ist der Malblock „Triumph“ Nr. 91 der Lehrmittelanstalt W. Bertelsmann in Bielefeld-Gadderbaum. Er zeichnet sich durch gutes Papier, vorzügliche Arbeit und billigen Preis aus. Der Block mit 10 dünnen Aquarellpapierblättern in der Größe $19\frac{1}{2}$ cm \times $24\frac{1}{2}$ cm kostet 0,20 M. Die Blätter sind an allen vier Seiten dauerhaft geleimt. Der Block hat vor den ringsum perforierten Blöcken den Vorzug, daß an keiner Seite nach dem Ablösen der Blätter ein Rand stehen bleibt. Bis zum letzten Blatt ist eine feste Unterlage vorhanden, da die Blätter auf Pappe geleimt sind; außerdem ist ein Schutzumschlag vorhanden. Zum Kolorieren dienen *W a s s e r f a r b e n*.

Zeichentechnik. Die Zeichnungen brauchen nicht künstlerisch schön zu sein, womit nicht gesagt ist, daß sie es nicht sein dürfen. Die Hauptsache ist, daß das, was man sieht, mit einfachen Strichen scharf wiedergegeben wird.

Wir zeichnen zuerst den Umriss im großen und ganzen, dann die hauptsächlichsten Einzelheiten des Umrisses und des Inneren. Die Mikrometerschraube wird angewandt, um den Verlauf der Linien in verschiedenen Ebenen kennen zu *l e r n e n*. Darauf werden sie in die Zeichnung eingetragen.

Bei unserem Präparat der Kartoffelstärke suchen wir also zuerst die *G e s t a l t* des Stärkekorns richtig wiederzugeben. Sie ist meist unregelmäßig, manchmal an einem Ende schmaler, mehr oder minder keilförmig, manchmal drei- bis viereckig. Das Bild darf nicht zu klein werden, selbst dann, wenn man glaubt, das Objekt nicht größer zu sehen. Ein richtiges Erkennen der Größe des Bildes wird erst durch Übung erreicht.

Nun geben wir die Lage des Bildungskernes an und suchen darauf seine Form zu ergänzen. Er erscheint als Punkt oder Strich oder auch als ein Kreuz oder Stern mit dunklem Umriß. Nachdem wir seine Gestalt im Bilde richtig angegeben haben, suchen wir die *n ä c h s t e n* dunklen und hellen Linien auf, die konzentrisch den Kern umlagern. Die folgenden nehmen nach dem einen Ende zu an Dicke ab.

Nachdem die Zeichnung soweit fertig ist, deuten wir mit Hilfe eines weicheren Bleistiftes die Schatten schwach an.

Dann wird dazu geschrieben, was die Zeichnung darstellen soll. Neben die einzelnen Teile setzen wir Buchstaben, die unter oder neben der Zeichnung mit der Erklärung zu versehen sind.

G r o ß e f e u c h t e K a m m e r. Wollen wir unser Präparat auch noch zu der folgenden Untersuchung verwenden, so müssen wir die Feuchtigkeit vor dem Verdunsten schützen.

Ein Teller (z. B. ein Suppenteller) wird zur Hälfte mit Wasser gefüllt. In die Mitte wird ein kleines Becherglas oder ein Wasserglas (geeignet ist auch eine Tasse oder etwas Ähnliches) gestellt, das fast ganz mit Wasser gefüllt wird. Auf dieses Glas wird der Objektträger gelegt, nachdem man das Wasser, falls es nötig ist, ergänzt hat, wie es in der vorigen Übung angegeben wurde. Dann wird ein größeres Glas, zum Beispiel ein Einmacheglas, darüber gestülpt, so daß es mit dem Rande im Wasser des Tellers steht. Vorher kann man dieses Glas auch mit Wasser ausschwenken. Vorteilhaft ist es, das größere Glas mit Löschpapier auszukleiden. Der abgeschlossene Raum ist jetzt mit Wasserdampf gesättigt, so daß der Tropfen im Präparat nicht verdunsten kann.

Sollen mehrere Präparate in dieser *g r o ß e n f e u c h t e n K a m m e r* aufbewahrt werden, so legen wir auf das erste zu beiden Seiten ein Streichholz auf, darüber das zweite Präparat, so bleibt zwischen beiden ein kleiner Zwischenraum und die einzelnen Präparate können sich gegenseitig nicht beschädigen.

Um eine Verwechslung zu vermeiden, zeichnen wir die Präparate mit einem *F a b e r s c h e n* Stift, mit dem man auf Glas schreiben kann. Wir wählen beim Einkauf einen rot schreibenden Stift, da er besser ist als ein blauer.

8. Reaktionen der Stärke.

Wir benutzen das Präparat der vorhergehenden Übungen oder wir stellen uns auf folgende Weise ein neues her. In den Wassertropfen auf dem Objektträger bringen wir eine Spur von Kartoffelmehl, das aus Kartoffelstärke besteht. Häufig kommt es allerdings vor, daß es durch Beimengen von anderem Mehl verfälscht ist, was im Mikroskop leicht zu entdecken ist, wenn wir uns das Bild der Kartoffelstärke eingepägt haben.

Nachdem wir das Objekt wieder eingestellt haben, bringen wir mit dem Glasstab einen Tropfen Kalilauge (Lösung von Kaliumhydroxyd in Wasser) an den Rand des Deckglases. Dabei müssen wir genau darauf achten, daß nichts von der Flüssigkeit auf das Deckglas gelangt. Sollte dieses doch geschehen, so nehmen wir mit einem Stückchen Filtrierpapier den Tropfen weg. Ist aber schon etwas von dem Reagens an das Objektiv gelangt, so spülen wir die äußere Linse sofort in reinem Wasser ab und reiben mit einem weichen Leinenlappen trocken.

Wenn der Tropfen Kalilauge aufgetragen ist, beobachten wir im Mikroskop. Die Kalilauge dringt allmählich vor. Sobald sie das Stärkekorn erreicht, tritt die Schichtung deutlicher hervor, verschwindet aber schnell vollständig, während das Korn aufquillt. Es wird glashell und immer größer, bis es ganz gelöst erscheint (vgl. Fig. 4 II).

Dasselbe erreichen wir, wenn wir das Präparat über einer Spiritusflamme vorsichtig erwärmen, ehe wir das Deckglas auflegen. Der Wassertropfen darf nicht zum Kochen kommen. Das verdunstete Wasser muß ersetzt werden. Bei 70° Wärme bildet sich ein ebensolcher Kleister wie bei der Einwirkung der Kalilauge.

Einem anderen Präparat setzen wir auf dieselbe Weise einen Tropfen Jodtinktur hinzu. Jodtinktur erhalten wir durch Lösung von Jod in Alkohol. Besser wirkt in unserem Falle eine Lösung von 0,5 g Jodkalium, 1 g Jod in 100 ccm Wasser. Betrachten wir wieder das Vordringen des Reagens bis zu einer bestimmten Stelle, so sehen wir hier bei der Berührung des Stärkekorns mit der Jodlösung die Stärke sich blau färben. Die Farbe wird immer dunkler, bis sie fast schwarz erscheint. Die Schichtung verschwindet. Wird Jod-Jodkaliumlösung zu dem Versuch verwendet, so tritt keine rein blaue, sondern eine violett-braune Färbung ein. Nimmt man die Jodlösung zu stark, so tritt augenblicklich eine solch starke Färbung ein, daß von den Übergängen nichts zu bemerken ist.

Fügen wir zu einem Kartoffelstärkepräparat Speichelflüssigkeit, so sehen wir, daß das Stärkekorn heller wird, aber doch so

bleibt, daß wir die Gestalt vollkommen erkennen können. Bringen wir jetzt Jodlösung hinzu, so tritt keine Blaufärbung mehr ein. Die Körner werden gelb oder weinrot.

Die Herstellung künstlicher Speichelflüssigkeit ist etwas umständlich. 4 g Chlorkalium, 3 g Chlornatrium, 2 g Natriumphosphat, 2 g Chlorkalzium werden in 1 l Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Kohlensäure gesättigt. In $\frac{1}{2}$ l Wasser werden 10 g Kaliumbichromat und 5 g Natriumsulfat gelöst. Nachdem beide Lösungen vereinigt sind, wird mit 1 l Wasser verdünnt.

Erklärung der Vorgänge. Jod bildet mit Stärke eine blaugefärbte Verbindung, die den Namen Jodstärke führt und in der das Jod nur sehr leicht an die Stärke gebunden ist. Die Reaktion tritt ein, wenn nur geringe Spuren von Jod oder nur Spuren von Stärke vorhanden sind. Die Jodprobe ist daher ein sicheres Mittel, Stärke erkennen zu können.

Auch beim Zusatz von Speichel treten chemische Kräfte in Tätigkeit. Aus dem Stärkekorn wird zunächst eine Masse herausgelöst und verwandelt (in Traubenzucker), die in eine andere Masse eingelagert war; diese gab dem Korn die Form. Es ist keine Stärke, wie sich bei der Jodprobe zeigt (Amylodextrin).

9. Mikrochemische Reaktionen der Baumwollfaser.

Baumwolle heißen die Samenhaare verschiedener Gossipiumarten. Am geeignetsten zur Untersuchung sind unverspinnene Fasern, die wir in der „Watte“ (z. B. der Verbandwatte) vor uns haben.

Wir schneiden von verschiedenen Wattefäden Stücke von etwa 1 cm Länge ab und bringen sie in den Wassertropfen auf einem Objektträger, möglichst so, daß sie sich nicht kreuzen. Nachdem das Deckglas aufgelegt ist, untersuchen wir mit dem Objektiv 7 und dem Okular I.

Die Baumwollfasern erscheinen plattgedrückt. Durch Bewegen der Mikrometerschraube suchen wir das Innere zu untersuchen: die Fasern sind hohl. Wir fassen eine Faser ins Auge und bewegen den Objektträger langsam, so daß wir die Faser vollständig betrachten können. Das breite Band wird an einigen Stellen schmaler. Beim genauen Hinschauen ist zu erkennen, daß das Band wellenartig gebogen oder schraubenartig gedreht ist.

Von dem Gesehenen entwerfen wir eine Zeichnung.

Das Reagens, das wir verwenden, um die mikrochemische Reaktion zu prüfen, ist nur beschränkte Zeit haltbar, darum bereiten wir es uns frisch.

In 10 ccm kaltem Wasser lösen wir 4 g gepulvertes Kupfersulfat und fügen der Lösung so lange kalte Sodalösung hinzu, bis sich der Niederschlag nicht mehr vermehrt. Dann rühren wir den Inhalt unseres Glases tüchtig um und lassen stehen, bis sich der Niederschlag von Kupferhydroxyd abgesetzt hat. Hierauf gießen wir die überstehende Flüssigkeit vorsichtig ab und bringen den Niederschlag auf ein Filter. Dann gießen wir so lange Wasser auf den Niederschlag, bis dieses Waschwasser auf Zusatz von Kalkwasser keinen Niederschlag mehr gibt. Den gereinigten Niederschlag bringen wir in eine Flasche von 30 ccm Inhalt, füllen mit Ammoniakwasser auf und schütteln tüchtig. Es bildet sich eine Lösung von Kupferoxydammoniak (Schweizers Reagens).

Kupferoxydammoniak löst Zellulose. Nicht gelöst wird eine korkartige Schicht (die Kutikula), die die ganze Faser umgibt.

Wir stellen das Mikroskop auf eine Faser ein, die nicht zu weit vom Rande des Deckglases entfernt liegt. Hierauf bringen wir mit dem Glasstab einen Tropfen Kupferoxydammoniaklösung an diesen Rand. Wir beobachten, wie die Flüssigkeit vordringt. Wenn die Faser erreicht ist, bläht sie sich auf; nur an einzelnen Stellen sieht man starke Einschnürungen. Wie ein Gürtel legt sich hier die Kutikula um die Faser. An diesen Gürteln hängen andere Teile der Kutikula als abgesprengte Fetzen; man sieht sie nicht immer deutlich, wir suchen verschiedene Gürtel genau danach ab.

Auch von diesem mikroskopischen Bilde entwerfen wir eine Zeichnung.

Die Reaktion ist für die Baumwolle charakteristisch; man ist also imstande, sie auf diese Weise nachzuweisen. Die anderen Gespinnstfasern, wie Flachs, Jute, Hanf stammen von anderen Pflanzenteilen, aus dem Innern verschiedener Pflanzen. Sie haben keine Kutikulamembran. Nur die verschiedenen Sorten von Kapok, die aus den Samenhaaren der Wollbäume stammen, weisen sie auf. Ihr Bau ist von dem der Baumwollfasern leicht zu unterscheiden. Stellen wir entsprechend ein Präparat aus „Pflanzendünen“ her, so sehen wir, daß die Fasern nicht gedreht sind. Höchstens ist die Spitze etwas gedreht. Am Grunde der Haare entdecken wir eine netzartige Verdickung der Membran.

Zu Geweben wird Kapok nicht mehr verarbeitet, da die Festigkeit und Dauerhaftigkeit weit geringer ist als bei der Baumwolle.

10. Rote Blutkörperchen.

Um bei dieser Untersuchung gute Resultate zu erhalten, müssen wir genügende Sicherheit beweisen und unser Präparat genügend rasch herstellen.

Wir reinigen einen Objektträger und zwei Deckgläser sehr sorgfältig. Hierauf waschen wir eine Fingerbeere sauber, reiben mit Alkohol und Äther ab, so daß auch alles Fett der Haut entfernt wird. Nun stechen wir mit einer reinen Nadel, die wir durch Erhitzen (mit einem brennenden Streichholz) sterilisierten, in die Fingerbeere. Die beiden Deckgläser legen wir aufeinander und drücken sie mit dem Rande auf die Stichwunde. Drücken wir jetzt, so tritt ein Tropfen Blut heraus, der sich zwischen den Deckgläsern in dünner Schicht kapillar ausbreitet. Die Deckgläser legen wir in die Mitte des Objektträgers und ziehen um ihren Rand eine Schicht, die das Hinzutreten der Luft zu der Blutflüssigkeit verhindert. Dazu benutzen wir Öl, das wir mit einem Pinsel auftragen können, oder Vaseline, die wir mit einem spitzen Hölzchen am Rande entlang ziehen.

Wir untersuchen mit dem Objektiv 7 und dem Okular III.

Im Präparat schwimmen in einer fast farblosen Flüssigkeit die roten Blutkörperchen (Fig. 5 a, c). Sie erscheinen als münzenartige Scheiben von rötlicher bis gelber oder von blaßbrauner Farbe. An beiden Seiten besitzen sie eine Aushöhlung, so daß die Blutkörperchen, die man von der schmalen Seite beobachten kann, etwas bikonkav erscheinen (Fig. 5 c). Mit Hilfe der Mikrometerschraube untersuchen wir die Mitte eines flachliegenden, gut sichtbaren Körperchens. Manchmal gelingt es uns auch, in diesem Präparat Blutkörperchen zu finden, die sich mit ihrer flachen Seite aneinandergelegt haben, so daß die Form an Geldrollen erinnert (Fig. 5 d). Sicherer sind die geldrollenartig geordneten roten Blutkörperchen in Präparaten mit mehr Blut, als wir verwandt haben.

Nachdem wir so die unveränderten roten Blutkörperchen kennen gelernt haben und auch Zeichnungen davon entworfen sind, wollen wir die Veränderungen beobachten, die sie bei äußeren Einflüssen erleiden.

Wir stellen ein Präparat her, indem wir ohne besondere Vorsichtsmaßregeln einen Tropfen Blut auf den Objektträger bringen und ihn etwas ausbreiten. Dann legen wir das Deckglas auf. Unter dem Einfluß der Luft, die jetzt Zutritt hat, werden die Blutkörperchen zackig, sie sehen aus wie ein Stechapfel oder ein Morgenstern (Fig. 5 b). Wir zeichnen verschiedene Formen. Wir erkennen auch, daß wir bei dem ersten Präparat die Vorsichtsmaßregeln anwandten, damit die Luft die Blutkörperchen nicht verändern konnte.

Bei einem anderen Präparat bringen wir an den Rand des Deckglases

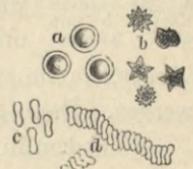


Fig. 5.
Farbige Blutkörperchen des Menschen.

a Frische Blutkörperchen von der Fläche gesehen; b im Eintrocknen begriffen; c frische Blutkörperchen von der Kante gesehen; d Blutkörperchen im Reihen.

einen Tropfen Wasser und beobachten im Mikroskop, wie es unter das Deckglas dringt. Wenn die Blutkörperchen vom Wasser getroffen werden, blähen sie sich auf. Darauf werden sie blaß und verschwinden fast vollständig. Das Wasser hat den Farbstoff aufgelöst. Der Farbstoff führt den Namen Hämoglobin. Jetzt bringen wir einen Tropfen einer Lösung von chloresurem Kali in Wasser hinzu. Wir stellen das Reagens her, indem wir 1,5 g chloresures Kali mit 30 ccm Wasser schütteln, bis es gelöst ist. Die roten Blutkörperchen erscheinen wieder, sind aber kleiner geworden. Die neue Flüssigkeit hat die Körperchen zum Schrumpfen

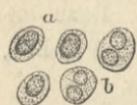


Fig. 6.
Farblose
Blutkörper-
chen des
Menschen.

a Mit einem
Kern; b mit
zwei Kernen.

gebracht, gleichzeitig aber bewirkt, daß das Hämoglobin wieder aufgenommen wurde.

Statt des chloresuren Kalis können wir mit annähernd gleichem Erfolge auch Kochsalz und Glaubersalz verwenden.

An den Deckglasrand eines neuen Präparates bringen wir einen Tropfen 10prozentiger Essigsäure. Wir beobachten das Eindringen und sehen, wie sich die roten Blutkörperchen im ersten Augenblick der Berührung aufblähen und dunkler werden. Dann geben sie das Hämoglobin ab.

Nachdem in diesem Präparat die roten Blutkörperchen verschwunden sind, suchen wir es ab nach weißen Blutkörpern, die viel weniger häufig sind, da auf 350—500 rote Blutkörperchen nur ein weißes kommt (Fig. 6). In den weißen Körpern sehen wir nach der Behandlung mit Essigsäure den Zellkern deutlich hervortreten. Die roten Blutkörperchen haben keinen Kern. Die Form der weißen Blutkörperchen ist verschieden, sie nähert sich meist mehr oder minder der Kugelform. Im frischen Blut erkennt man oft an ihnen Fortsätze („Scheinfüßchen“), da sie sich wie Amöben bewegen.

Einen dritten zelligen Körper im Blut, die Blutplättchen, können wir erst später kennen lernen.

11. Hexenmehl.

In der Apotheke kann man als Hexenmehl die Sporen von *Lycopodium clavatum* erhalten. Es ist ein leichtbewegliches, gelbliches Pulver.

Zunächst stellen wir ein Präparat her, indem wir eine Spur des Pulvers in einen Tropfen Wasser zwischen Objektträger und Deckglas bringen. Die Körper im Mikroskop (Vergrößerung über 300) erscheinen in verschiedener Form, aber sie sind alle einander gleich und befinden sich nur in ver-

schiedener Lage. Um ihre Gestalt zu erkennen, müssen wir demnach verschiedene Sporen im Präparat ins Auge fassen. Wir bewegen den Objektträger langsam und entwerfen von einzelnen Sporen Bilder, die nicht zu klein sein dürfen. Aus den Zeichnungen suchen wir die Gestalt zu ergründen: die Körper sind von drei ebenen und einer gekrümmten Fläche begrenzt.

Um die Sporen durchsichtiger zu machen, stellen wir ein neues Präparat her, in dem wir den Wassertropfen durch einen Tropfen *Karbolsäure* ersetzen. Statt *Karbolsäure* verwendet man auch vorteilhaft eine Lösung von 5 g *Chloralhydrat* in 2 ccm Wasser; die Auflösung geht erst innerhalb einiger Tage vor sich.

Wir suchen nun den Oberflächenbau, ein schön verzweigtes Netzwerk, genau darzustellen.

Weiter stellen wir ein Präparat her von *Hexenmehl* in *Glyzerin*. Dieses Intermedium hellt auf. In den Sporen sehen wir kleine, farblose Tröpfchen. Es sind Tropfen von Öl, das als Reservestoff in der Spore aufgespeichert wurde.

Das Öl sehen wir sich zu größeren Tropfen vereinen und aus der Spore austreten, wenn wir als Einschlußmittel einen Tropfen konzentrierte *Schwefelsäure* wählen und nach dem Auflegen des Deckglases schnell beobachten. Zuerst tritt Aufhellung ein, dann platzen die Sporen.

Wir stellen wieder ein Präparat her, indem wir ein wenig Pulver in einen Tropfen Wasser bringen. Bevor wir das Deckglas auflegen, versetzen wir den Tropfen mit einer geringen Menge *Alkannatinktur*. Die Ölkügelchen färben sich rot. An die eine Seite des Deckglases bringen wir einen Tropfen *Glyzerin*, an die entgegengesetzte halten wir ein Stück Löschpapier oder gewöhnliches Filtrierpapier. Das Papier saugt die Flüssigkeit unter dem Deckglas auf, während das *Glyzerin* jetzt schneller zwischen Objektträger und Deckglas dringen kann.

Alkannatinktur stellt man her, indem man *Alkannin* in absolutem Alkohol auflöst und dann die gleiche Menge Wasser zusetzt; nach einigen Tagen wird filtriert.

Alkannin ist ein Reagens auf Fette, die es rotbraun färbt; aber auch die ätherischen Öle und die Harze zeigen ein ähnliches Verhalten.

12. Tabakblätter.

Von einer Zigarre lösen wir das Deckblatt ab und werfen es in warmes Wasser, damit es etwas weicher wird. Wenn das erreicht ist, schneiden wir Stücke von etwa 1,0 cm Länge und 0,5 cm Breite ab, um aus ihnen

ein mikroskopisches Präparat zu verfertigen. Bringen wir probeweise ein Stück in einen Tropfen Wasser, legen das Deckglas auf und betrachten unter dem Mikroskop, so werden wir nicht viel sehen, da das Objekt das Licht nicht durchläßt. Vor der Untersuchung müssen wir die Blätter erst bleichen.

Zum Bleichen verwenden wir Kaliumhypochlorit, das als Eau de Javelle käuflich ist. Man muß die Flasche stets im Dunkeln aufbewahren, darf sie auch beim Experimentieren nicht ins Licht stellen. Besser noch ist es, wenn man die Flüssigkeit in einer Flasche von gelbem Glase aufbewahrt, oder wenn man die weiße Flasche mit schwarzem Papier rundum beklebt. Die Flüssigkeit zersetzt sich im Licht sehr schnell.

In ein kleines Gefäß, z. B. ein Uhrglas, schütten wir Eau de Javelle und legen die Stücke aus dem Tabakblatt hinein, bis sie weiß geworden sind. Dann fischen wir sie heraus und werfen sie in ein großes Gefäß mit viel Wasser, um sie abzuspülen.

Nach einigen Minuten, während denen das Wasser bewegt worden ist, legen wir das feuchte Blattstück auf den trockenen Objektträger. Jetzt wird das Stück halbiert, indem wir mit einem scharfen Messer einen Schnitt über die Mitte führen. Darauf wenden wir die eine Hälfte um. So haben wir die Ober- und die Unterseite des Blattes nach oben gekehrt liegen. Nachdem ein Tropfen Glycerin hinzugefügt ist, legen wir ein Deckglas auf und beobachten zunächst mit dem Objektiv 3 und dem Okular III.

Wir drehen die größte Blendenöffnung vor und beleuchten stark. Das Tabakblatt weist Zellen auf, die sich in Länge und Breite wenig unterscheiden. In dem Präparat erkennen wir sehr dunkle Punkte, die sich teilweise streifenförmig aneinanderlegen. Wir entwerfen eine Zeichnung.

Nachdem wir eine geeignete Stelle eingestellt haben, wollen wir diese Punkte genauer untersuchen und schrauben deshalb das Objektiv 7 an. Die schwarz erscheinenden Stellen sind Zellen, die mit vielen kleinen Kristallen (Kristallsand) von Kalkoxalat dicht gefüllt sind.

Wir wollen nun die äußere Schicht des Blattes, die Oberhaut oder Epidermis, genauer betrachten. Zu dem Zwecke blenden wir die Randstrahlen ab, indem wir eine andere Blendenöffnung verschieben. Die richtige Größe müssen wir ausprobieren.

Wenn wir auf die Zellwände achten, finden wir in unseren beiden Hälften des Präparates auffällige Unterschiede. Bei der einen verlaufen die Wände fast geradlinig, dies ist die Oberseite, bei der anderen, also der Unterseite, bilden die Wände Wellen und Buchten. Wir bewegen das Präparat und suchen die Blattnerven auf. Ein Vergleich der Ober- und Unterseite zeigt, an welcher Seite die Nerven liegen.

Wir suchen die Zellen der Unterseite ab. Zwischen den gleichgestalteten finden wir solche, die in ihrer Gestalt stark von den anderen abweichen. Zwei kleinere Zellen legen sich halbmondförmig aneinander. Man könnte sie mit zwei Bohnen vergleichen oder vielleicht auch mit der flachen Seite einer Kaffeebohne; denn auch zwischen diesen beiden Zellen findet sich ein Zwischenraum, nur reicht dieser bei den Zellen nicht bis zum Rand. Gewöhnlich ist dieser Zwischenraum dunkel, weil er mit Luft gefüllt ist. Diese Öffnungen in der Epidermis des Blattes heißen *S p a l t ö f f n u n g e n*.

Viele Pflanzen haben an der Blattoberseite keine Spaltöffnungen. Wir suchen in unserem Präparat die Blattoberseite ab. Sofort fällt auf, daß wir hier nicht in der Anzahl Spaltöffnungen finden wie an der Unterseite, aber vorhanden sind sie auch hier. Bei sorgfältigem Suchen müssen sie stets gefunden werden. Wir zeichnen ein Bild von der Ober- und Unterseite des Blattes, indem wir auf die Art der Zellen und Zellwände unser Hauptaugenmerk richten.

Wir schrauben wieder das schwächere Objektiv an. An der Epidermis des Tabakblattes sitzen Haare, die wir jetzt untersuchen, indem wir die Mikrometerschraube fleißig benutzen. Die Haare bestehen *s ä m t l i c h* aus *m e h r e r e n* Zellen. Wir verfolgen sie von der Ansatzstelle bis zur Spitze. Die Zellen werden noch schmaler, das Haar wird dadurch immer spitzer. Vergleichen wir aber mehrere Haare, so finden wir solche mit Köpfen und solche ohne Köpfe. Die Haare mit Köpfen sind Drüsenhaare. Der Kopf ist länglichrund und besteht aus mehreren Zellen. Sein Inhalt sieht zumeist gelblich aus; es scheint eine ölartige Flüssigkeit zu sein.

Um diesen Inhalt zu untersuchen, färben wir wie beim Hexenmehl mit *A l k a n n a t i n k t u r*, nachdem wir bei einem gebleichten Blatt die Javellesche Lauge ausgewaschen haben. Hierauf spülen wir noch einmal mit Wasser ab und stellen dann das Präparat fertig.

Die Drüsenhaare unterscheiden sich nur in ihrer Länge voneinander. Es sind längere und kürzere zu finden.

Die gewöhnlichen Haare sind den Drüsenhaaren ähnlich, nur daß ihnen der Kopf fehlt. Hin und wieder sind sie gabelig verzweigt.

Wir zeichnen verschiedene Haarformen, untersuchen dabei, auch bei stärkerer Vergrößerung, die unteren Zellen, ob wir schwache längsverlaufende Linien auffinden können.

Nun gehen wir daran, ein Bild vom Tabakblatt zu zeichnen, auf dem alle einzelnen Elemente, die wir beobachteten, zur Darstellung kommen sollen.

Nachdem wir jetzt den wesentlichen Bau des Tabakblattes erkannt haben, also wissen:

1. das Tabakblatt enthält Kristallsandzellen,
2. Ober- und Unterseite besitzen Spaltöffnungen,
3. Drüsenhaare und gewöhnliche Haare sind mehrzellig,

wollen wir auch andere Objekte untersuchen. Dabei können wir leicht auf Stücke stoßen, die ganz andere Bilder zeigen; denn die Tabakfabrikate werden mit den verschiedensten fremden Bestandteilen vermischt. Aber nicht immer kann man von einer Fälschung sprechen! Viele Surrogate sind als Zusatz erlaubt: Rosenblätter, Kirschblätter, Wegerichblätter, Huflattichblätter, Weichselblätter, Eibischblätter, Steinkleeblüten, Veilchenwurzelpulver beim Rauchtobak, getrocknete Brennesseln und Baldrianwurzeln beim Schnupftobak. Häufige Verfälschungen sind Kartoffelkraut, Waldmeisterkraut und Lavendelblüten.

Wir entnehmen zunächst aus dem Innern unserer Zigarre etwas Tobak und weichen ihn in warmem Wasser auf. Mit den Fingern suchen wir die Teile möglichst zu trennen und auszubreiten. Dann wählen wir möglichst verschieden aussehende Stücke aus, bleichen sie mit Eau de Javelle und stellen auf dieselbe Weise wie vorhin Präparate her, die wir darauf untersuchen, ob es Tobakblätter sind oder nicht. Besonders, wenn wir ein billiges Fabrikat vor uns haben, werden wir wohl nicht vergeblich nach Surrogaten zu suchen haben.

Auf gleichem Wege können wir den geschnittenen Pfeifentobak untersuchen.

13. Kristalle in der Knoblauchzwiebel.

Nachdem wir in den Tobakblättern Kristallsand gefunden haben, d. h. sehr kleine Kristalle, deren Gestalt wir nicht feststellen konnten, wollen wir in dieser Untersuchung größere Kristalle kennen lernen, die aus demselben Stoffe gebildet sind.

Von der Zwiebel von *Allium sativum* (Knoblauch) lösen wir eine äußere, trockene Schale ab. Um die Luft zu vertreiben, legen wir sie einige Zeit in Alkohol. Darauf spülen wir in Wasser ab und legen ein Stück der Schale in einen Tropfen Glycerin auf den Objektträger. Das Deckglas wird aufgelegt; Beobachtung mit Objektiv 7 und Okular I.

Wenn die grobe Einstellung erreicht ist, stellen wir mit der Mikrometerschraube hoch ein; wir sehen dann die Oberhautzellen. Wir bestimmen ihre Form, ihre Lage zueinander und stellen fest, ob sich Lücken zwischen ihnen finden. Dann zeichnen wir ein Bild davon.

Bewegen wir den Tubus langsam nach unten, so erkennen wir unter

der Epidermiszellenschicht eine andere, in deren Zellen wir Kristalle wahrnehmen. Langsam und vorsichtig verschieben wir das Präparat, um in dem Objekt Kristalle in verschiedener Lage zu finden. Jedesmal, wenn ein Kristall uns eine andere Seite zuwendet, entwerfen wir ein nicht zu kleines Bild davon. So werden wir aus den Einzelbeobachtungen bald erkennen, daß die Kristalle vierseitige Prismen bilden, denen Pyramiden aufgesetzt sind

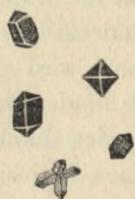


Fig. 7.
Kristalle aus
der Schale
der
Knoblauch-
zwiebel.

(Fig. 7).
Einzelne Kristalle finden wir auch, die aus mehreren einzelnen zusammengesetzt sind, sogenannte Zwillingkristalle.

Wir entwerfen ein Bild, in dem wir verschiedene Zellen darstellen, und in diese zeichnen wir Kristalle in verschiedener Lage, wenn im Präparat in anstoßenden Zellen diese verschiedene Lagerung auch nicht vorkommt.

Wir setzen einem Präparat Essigsäure hinzu. Die Kristalle verändern sich nicht. Sie bestehen aus oxalsaurem Kalk. Wir fügen etwas Salzsäure hinzu. Die Kalziumoxalatkristalle lösen sich auf, ohne daß sich eine Gasentwicklung zeigt.

14. Schneiden mit dem Rasiermesser.

Die meisten Objekte sind nicht ohne weiteres zur mikroskopischen Betrachtung geeignet. Wir beobachten bei durchfallendem Lichte, was aber nur dann möglich ist, wenn das Objekt dieses Licht durchläßt. Die meisten Objekte sind dazu zu dick. Darum müssen wir aus ihnen dünne Schichten zu gewinnen suchen, die den Anforderungen des Mikroskops genügen; wir müssen „mikroskopische Schnitte“ anfertigen.

Zum Schneiden verwenden wir ein Rasiermesser. Man verwendet Messer mit verschiedenem Querschnitt, was aber durchaus nicht unbedingt notwendig ist; wir verwenden zu allen Schnitten ein beiderseits hohlgeschliffenes Messer, müssen aber besonders bei harten Objekten mit gehöriger Vorsicht verfahren.

Vorsichtige, gute Behandlung erfordert das Messer überhaupt, wenn es irgendwie leistungsfähig sein soll. Unebenheiten in der Schneide bringen feine Zerreißen im Schnitt hervor, die bei starker Vergrößerung natürlich störend wirken werden. Ist das Messer nicht scharf, so kann man auch keine feinen Schnitte damit herstellen; es werden sich Verzerrungen und Zerreißen einstellen.

Um das Messer zu schärfen, wird es auf einem Abzugstein ab-

gezogen. Der Stein wird mit Wasser angefeuchtet; dann wird das Messer flach darauf gelegt, so daß Rücken und Schneide den Stein berühren. Beim Abziehen muß ein gelinder, gleichmäßiger Druck auf die Klinge ausgeübt werden. Lieber ist etwas mehr auf den Rücken zu drücken, als daß der Druck zu sehr auf die Schneide verlegt wird; denn sonst wird diese zu einem kurzen keilförmigen Stück zugeschliffen. Es werden kreisförmige Bewegungen ausgeführt. Vom Stein und vom Messer werden durch die Reibung Staubteilchen abgerissen, die mit dem Wasser einen Brei bilden, in dem die Klinge geschliffen wird. Das Messer muß umgedreht werden, so daß von beiden Seiten gleichviel abgenommen wird.

Nach dem Abziehen wird die Klinge mit Wasser abgespült und sorgfältig getrocknet. Dann wird das Messer auf einem Riemen gestrichen. Soll nur ein Riemen verwendet werden, so muß dieser möglichst aus Juchtenleder sein. Benutzt man einen doppelten Riemen, so kann eine Seite mit der käuflichen Streichriemenpasta eingerieben werden.

Auch beim Abziehen auf dem Streichriemen muß das Messer mit dem Rücken und der Schneide den Riemen berühren. Dann wird das Messer mit dem Rücken voran über den Riemen gezogen, umgedreht, aber so, daß das Messer sich auf dem Rücken dreht, daß also die Schneide den weitesten Weg zurückzulegen hat. Im anderen Falle würde die Schneide abgerundet werden. Wieder wird das Messer flach aufgelegt und nach der anderen Seite gezogen. Das Umdrehen muß wieder auf dieselbe Weise geschehen. So wird etwa zwanzigmal hin und her gestrichen.

Manche sehr feine Scharten verschwinden noch, wenn man das Messer auf dem Ballen der Hand abzieht. Man verfährt wie beim Streichriemen.

Beim Schließen des Messers muß man darauf achten, daß die Schneide nicht auf die Schale schlägt, dadurch entsteht stets eine Scharte. Besonders muß man bei älteren Messern darauf sehen, da die Schalen sich in der Regel etwas ziehen.

Nach dem Gebrauch muß das Messer mit Wasser abgerieben, dann sorgfältig getrocknet werden. Das Trocknen ist aber erst vollkommen nach dem Abziehen auf dem Riemen. Es darf daher niemals ein Messer weggelegt werden, ohne daß es vorher auf dem Riemen gestrichen wurde.

Beim Schneiden öffnen wir das Messer so weit, daß Klinge und Heft in einer Richtung liegen. Wir fassen das Messer mit der ganzen Hand, halten die Finger geschlossen und drücken den Daumen in die Kehle der Klinge (zwischen Schneide und Griff); so haben wir das Messer fest in der Hand, und ein Ausrutschen ist nicht möglich.

Das Objekt, das wir schneiden wollen, fassen wir zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, es bildet mit dem Zeigefinger einen rechten

Winkel. Wir lassen es so weit vorstehen, daß das Messer beim Schneiden leicht auf dem Zeigefinger gleitet.

Das Messer sowohl als die Schnittfläche des Objektes muß man beim Schneiden *stets anfeuchten*¹⁾. Ist das Material frisch, so benutzt man dazu Wasser, hat es aber in Spiritus gelegen, so muß mit Alkohol befeuchtet werden.

Unsere ersten Schnitte machen wir beim Holundermark, einem Material, das beim Mikroskopieren vielfach verwendet wird, so daß wir einen größeren Vorrat davon sammeln müssen. (Natürlich ist es auch käuflich zu haben.)

Wir stellen uns ein Glas Wasser zur Hand und füllen ein Uhrglas mit Wasser. Das Stück Holundermark fassen wir mit der Linken; das Messer nehmen wir in die Rechte und tauchen die Klinge in das Glas mit Wasser. Nachdem wir auch die Schnittfläche angefeuchtet haben, setzen wir das Messer am Ende an und ziehen es durch das Mark, ohne dabei einen besonderen Druck auszuüben. Ganz falsch wäre es, wenn wir das Messer durch das Objekt drücken wollten, so daß nur eine Stelle des Messers zur Verwendung käme; denn hierbei würden die Teile des Objektes gepreßt und gequetscht.

Der Schnitt haftet nun an dem feuchten Messer. Mit einem feinen Pinsel nehmen wir ihn ab (ehe er etwa antrocknet) und legen ihn in das Uhrglas mit Wasser. Er löst sich auch ab, wenn wir das Messer in das Wasser tauchen; dann können wir ihn im Wasserglase mit dem Pinsel auffischen und in das Uhrglas befördern. Man muß sich aber hüten, die Schnitte mit einem harten Gegenstande vom Messer ablösen zu wollen, da die Schneide des Messers (und oft auch das Objekt) dabei leidet.

Wieder werden Messer und Schnittfläche angefeuchtet, um einen zweiten Schnitt herstellen zu können. Wenn man mehrere Schnitte im Uhrglas hat, kann man den geeignetsten heraussuchen.

Unsere ersten Schnitte vom Holunder werden noch nicht besonders schön geworden sein. Den besten prüfen wir zunächst auf seine Dicke. Wir legen ihn auf gedruckte Schrift. Er ist nur dann dünn genug, wenn die Schrift unverändert sichtbar wird. Bald werden wir dahin kommen, daß wir einem Schnitt schon äußerlich ansehen können, ob er die erforderliche Dicke bekommen hat. Sonst prüfen wir unter dem Mikroskop, nur wenn wir alle Teile, von den oberen bis zu den unteren, überblicken können, wobei wir natürlich die Mikrometerschraube verwenden müssen, ist der Schnitt dünn genug.

Unsere zu dicken Holundermarkschnitte werfen wir aber nicht weg,

¹⁾ Von Ausnahmefällen abgesehen, in denen die Flüssigkeit das Objekt verändern könnte.

sondern trocknen sie, schneiden sie in schmale Streifen und bewahren sie in einem Kästchen auf, um sie als Schutzleisten bei den Präparaten verwenden zu können (siehe S. 13).

Wenn wir ein genügend dünnes Objekt erlangt haben, prüfen wir weiter, ob es auch die gewünschte Schnittrichtung hat. Der Querschnitt darf nicht schräg gerichtet sein, da man sonst kein richtiges Bild erhalten kann.

Ein anderer Fehler ist der, daß manche Elemente zerrissen, manche aus ihrer natürlichen Lage und ihrem natürlichen Zusammenhang gerissen sind. Es ist die Folge eines zu stumpfen Messers und einer zu ungeschickten Handhabung desselben. Man muß sich bemühen, eine leichte Hand beim Schneiden zu bekommen, und alles Drücken — als wollte man Kartoffeln schälen! — streng zu vermeiden.

Auch der Fehler, daß die Ränder zerrissen und lappig erscheinen, ist auf dieselbe Ursache zurückzuführen. Besonders an dem letzten Rande gibt es leicht zerfetzte Stellen, da hier gedrückt wurde. Um dies zu vermeiden, legen wir zwischen Daumen und Objekt eine Scheibe Holundermark, in die wir den Schnitt hineinführen, dann wird auch der letzte Rand glatt werden.

Wenn wir das Messer aus der Hand legen, schließen wir es vorher ganz oder doch fast ganz; niemals, auch nicht für den kürzesten Augenblick, darf das Messer völlig geöffnet auf den Tisch gelegt werden! Denn dabei würde die Schneide den Tisch berühren, wobei sie selbstverständlich leidet.

15. Die weiße Zuckerrübe.

Bei der Wurzel der weißen Zuckerrübe unterrichten wir uns zuerst über die Lage der verschiedenen Schnittebenen.

Zunächst stellen wir die Lage der Längsachse fest. Ein Schnitt, dessen Fläche auf dieser Achse senkrecht steht, heißt **Querschnitt**, der, der in der Richtung der Achse verläuft und einen Radius enthält, **Radialschnitt** oder **radialer Längsschnitt**, der endlich, der der Achse parallel läuft und auf dem mittleren Radius senkrecht steht (weil er der zu diesem Radius gehörenden Tangentialebene parallel ist), heißt **Tangentialschnitt** oder **tangentialer Längsschnitt**.

Es geht daraus hervor, daß von einem Objekte an einer Stelle nur ein radialer Längsschnitt möglich ist, besonders dann, wenn er die Längsachse enthalten soll. Bei manchen Untersuchungen wird man auch streng darauf achten müssen. In der folgenden Untersuchung brauchen wir nicht so ängstlich zu verfahren.

Mit dem Taschenmesser schneiden wir aus der Rübe ein 2 cm langes prismatisches Stück heraus, dessen etwa 0,5 qcm große Grundfläche in die Radialebene fällt.

Wie beim Holundermark fassen wir dieses Prisma mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand und lassen die Radialfläche wenig vorstehen. Mit dem zuvor in das Wasser getauchten Messer machen wir einige radiale Längsschnitte, die wir jedesmal in ein Uhrglas mit Wasser übertragen.

Den am besten gelungenen Schnitt suchen wir aus und bringen ihn in einen Tropfen Wasser in der Mitte des Objektglases, legen ein Deckglas auf und untersuchen unter dem Mikroskop.

Die Zellen, die wir sehen, sind fast rechtwinklig. In ihnen finden wir eine farblose Flüssigkeit, in einzelnen ist auch der Zellkern zu sehen, der aus einzelnen Körperchen besteht, und ein Belag der Wände, das Protoplasma. In einzelnen Zellwänden sind helle runde Punkte zu erkennen; es sind Tüpfelflächen. Die Zellen schließen nicht alle fest aneinander, sondern lassen zwischen sich Räume, die Zellzwischenräume oder Interzellularräume.

Parallel zu der Längsachse der Wurzel bemerken wir schmalere Zellen und zwischen ihnen lange Röhren, die meist mit Luft gefüllt sind. Die Wände der Röhren sind verdickt. Wir wollen zur besseren Untersuchung dieser Gefäße die Luft aus ihnen entfernen. Am besten ist es, wenn wir eine Luftpumpe verwenden können, sonst suchen wir uns mit luftfreiem (gekochtem) Wasser zu helfen, oder wir bringen die Schnitte einige Zeit in Alkohol. Dabei wird der Zellinhalt getötet, was in diesem Falle aber kein großer Nachteil ist.

Die Verdickungen der Gefäßwände fassen wir genauer ins Auge. Es sind Verdickungsleisten vorhanden, die sich netzförmig aneinanderlegen und zwischen sich unverdickte Stellen freilassen. Diese unverdickten Stellen sind Tüpfel, sie verlaufen quer zur Richtung des Gefäßes.

Wir suchen ein Gefäß auf, das beim Schneiden zur Hälfte entfernt wurde. In diesem geöffneten Gefäß finden sich ringförmige Verdickungen, die in das Innere vorragen. Es sind Überreste einer früheren vollständigen Trennungswand. Als diese Scheidewände noch nicht zerrissen waren, stellte das Gefäß also eine Zellreihe dar.

Manchmal findet man in dem Präparat Zellen, in denen sich schwarz erscheinende Kristalle feststellen lassen. Wir prüfen sie daraufhin, ob sie aus Kalziumoxalat bestehen. Wenn wir Essigsäure hinzufügen, bleiben sie unverändert, bringen wir aber einen Tropfen Salzsäure zum Präparat, so lösen sie sich ohne Gasentwicklung auf. Tatsächlich haben wir also wieder Kristalle von oxalsaurem Kalk vor uns.

Um die Strukturverhältnisse noch besser erkennen zu können, wollen wir das Präparat färben. Wir verwenden ein Mittel, das die Zellulose, den Baustoff der Zellwände, charakteristisch färbt; es ist Chlorzinkjodlösung.

Dieses Reagens kann man herstellen, indem man 20 Teile Zinkchlorid, 6,5 Teile Jodkalium und 1,3 Teile Jod in 10,5 Teilen Wasser auflöst.

Von der Lösung bringen wir einen Tropfen mit dem Glasstab an den Rand des Deckglases. Da es uns nicht auf den Verlauf des Prozesses ankommt, beschleunigen wir ihn, indem wir das Deckglas mit einer Nadel etwas lüften, so daß der Tropfen etwas schneller darunter gelangen kann.

Die Zellwände färben sich violett. Die Tüpfelflächen bleiben ungefärbt oder sie überziehen sich mit einem schwach gefärbten Gitterwerk. Die verdickten Wände der Gefäße färben sich gelbbraun, denn sie sind verholzt. Wir versuchen verschiedene Blendenöffnungen, um die geeignetste herauszufinden.

Nun wollen wir an unserem Objekt eine andere Art und Weise des Färbens kennen lernen.

Die Hämatoxylinlösung, die wir verwenden, stellen wir nicht selbst her, weil es zu umständlich ist, sondern beziehen die Delafield'sche Hämatoxylinlösung fertig.

In ein Uhrglas gießen wir etwas von dieser Lösung und verdünnen noch mit destilliertem Wasser (aber nicht mit Leitungswasser!). In diese Flüssigkeit legen wir den Schnitt mit Hilfe eines feinen Pinsels, der nur wenige Haare besitzt. Nach etwa 5 Minuten wird die Färbung gut sein. Wir fischen den Schnitt heraus und waschen ihn 10 Minuten lang in Leitungswasser. Der Schnitt muß hellblau erscheinen, nicht aber zu dunkel sein. Die richtige Zeitdauer des Färbens muß ausprobiert werden. Man kann den Schnitt auch von Zeit zu Zeit aus der Lösung herausnehmen, ihn flüchtig in Wasser ausspülen und unter dem Mikroskop untersuchen, ob die Färbung weit genug fortgeschritten ist. Ist ein Schnitt dunkelblau geworden, so ist er überfärbt; auswaschen im Wasser nutzt jetzt nichts mehr. Wir bringen ihn in etwa 30 ccm Wasser, dem wir einen Tropfen Salzsäure zugesetzt haben. Hierin bleibt der Schnitt, bis er einen rötlichen Schimmer annimmt. Danach wird er in Leitungswasser ausgewaschen und ist wieder verwendbar. Sollte er in dem sauren Wasser rot geworden sein, so gießen wir noch die gleiche Menge Wasser zu und lassen danach einen Tropfen Salmiakgeist hineinfallen. Er färbt sich dann wieder blau. Selbstverständlich muß man die Flüssigkeit stets umrühren, wenn man einen Tropfen anderer Flüssigkeit zugefügt hat.

Den richtig gefärbten Schnitt untersuchen wir im Wassertropfen.

Die Zellwände sind violett gefärbt. Die Tüpfelwände sind gar nicht gefärbt oder sie weisen wieder ein schwach gefärbtes Gitterwerk auf. Die verholzten Wände der Gefäße blieben ungefärbt. Hämatoxylin ist kein Reagens auf Zellulose. Die Färbung der Zellwände wird hier bewirkt durch Pektinstoffe, die zwischen der Zellulose der Zellwände enthalten sind.

16. Herstellung eines Glycerindauerpräparates.

Einen nach der vorhergehenden Übung gut mit Hämatoxylin gefärbten Schnitt wollen wir benutzen, um ein Dauerpräparat zu gewinnen. Wir füllen ein Uhrglas mit wenig Wasser, dem wir zwei Tropfen Glycerin hinzufügen. In diese Mischung bringen wir den gefärbten (und natürlich ausgewaschenen) Schnitt. An einem staubfreien Ort können wir die Vorrichtung sich selbst überlassen. Das Wasser verdunstet und der Schnitt liegt zuletzt in Glycerin. Besser aber ist es, wenn wir von Zeit zu Zeit einen Tropfen Glycerin hinzufügen. Dann geht die Überführung in Glycerin schneller vor sich, und die Gefahr des Verstaubens ist nicht so groß.

Wenn wir auf die letzte Weise verfahren, können wir nach 6—12 Stunden das Objekt in ein anderes Uhrglas bringen, in das wir drei Tropfen Glycerin geträufelt haben. Darin bleibt das Objekt mindestens 12 Stunden. Das Glas wird dabei fest zugedeckt.

Hierauf können wir an die Herstellung des Präparates gehen. Der Objektträger wird gut gereinigt und auf die Zeichnung (S. 13) gelegt, damit das Objekt auch genau in die Mitte kommt. In die Mitte bringen wir einen Tropfen Glycerin und legen zwei Schutzleisten an zwei entgegengesetzten Seiten auf. Die richtige Stelle treffen wir am besten, wenn wir auf unserer Zeichnung auch das Deckglas in seinem Umriß zeichnen, was uns auch dabei zustatten kommt, wenn wir das Deckglas genau in die Mitte des Objektträgers bringen wollen. Das Präparat macht dann einen viel besseren Eindruck, als wenn das Objekt und das Deckglas schief an einer Seite sitzen. Wohl ist das Äußere des Präparates nicht die Hauptsache, wenn man aber das Unordentliche auf diese leichte Weise vermeiden kann, soll man es auch tun.

Nachdem das Deckglas aufgelegt ist, ist das Dauerpräparat aber noch nicht fertig. Das Glycerin zieht aus der Luft Wasser an; aus diesem Grunde muß die Flüssigkeit gegen die Luft abgeschlossen werden. Wenn das Anziehen des Wassers in besonderen Fällen nicht schädlich sein würde, so können wir das Präparat doch nicht so lassen; denn Deckglas und Objekt würden sich auf dem Objektträger nur zu leicht verschieben.

Wir ziehen darum um das Deckglas einen Lackring aus Asphaltlack oder aus schwarzem Maskenlack, den Beseler in Berlin, Schützenstraße 66, liefert. Der Lack haftet aber nur gut, wenn Deckglas und Objektträger sehr gut gereinigt sind.

Der Lack könnte unter das Deckglas dringen, darum schließen wir das Glycerin erst nach außen durch eine Wachszelle ab. Wir verwenden eine dünne Wachskerze, die in langen, zu Spiralen aufgerollten Stücken verkauft wird, von der wir ein kürzeres Stück abschneiden. Wir zünden die Kerze an, blasen sie wieder aus und lassen sofort von dem Docht an die vier Ecken des Deckglases einen Tropfen fallen, so ist das Glas festgelegt, sobald das Wachs erstarrt ist. Die Kerze wird wieder angezündet und ausgeblasen. Jetzt ziehen wir mit dem Docht an den vier Seiten des Deckglases entlang, und das Glycerin ist abgeschlossen.

War etwas zu viel Glycerin unter dem Deckglas, so ist es bei diesem Vorgang hervorgetreten. Wir fügen Wasser hinzu und nehmen das Ganze mit Filtrierpapier vorsichtig weg. Wenn alle Flüssigkeit verschwunden ist, ziehen wir mit einem Pinsel über die Wachszelle den endgültigen Lackring. Er muß natürlich etwas auf das Deckglas übergreifen, unschön ist es aber, wenn dieser Rand zu breit wird, er kann dann auch die Beobachtung des Objektes beeinträchtigen. Auf dem Objektglase muß der Ring etwas breiter aufliegen.

So ist das Objekt endgültig eingeschlossen. Wir dürfen uns aber nicht der Hoffnung hingeben, als sei es nun für alle Zeiten gesichert; es drohen ihm verschiedene Gefahren. Die Temperaturunterschiede bewirken eine verschiedene Ausdehnung des eingeschlossenen Glycerins. Dadurch kann sich manchmal der Zusammenhang zwischen dem Ring und den Gläsern lockern. Die Objekte fangen im Glycerin oft an zu quellen. Die auftretenden Kräfte sprengen den Lackring los. Gegen diese zweite Erscheinung kann man sich einigermaßen schützen, wenn man das Objekt vor dem Einschluß mit Glycerin gut durchtränkt. Je länger wir unser Objekt also in dem letzten Uhrglas mit Glycerin liegen lassen, desto besser entgeht unser Präparat der Gefahr.

Das Licht zerstört alle Farben, deshalb dürfen wir unser Präparat auch nicht am Licht liegen lassen. Damit wir später wissen, welches Objekt wir vor uns haben und wie es behandelt wurde, kleben wir auf beide Enden des Objektglases eine Etikette¹⁾. Die eine erhält die Aufschrift:

¹⁾ In geeigneter Form von W. Holzhauer, Fabrik medizinischer Bedarfsartikel, Marburg (Hess.) und von Jung-Heidelberg zu beziehen.

Weißer Zuckerrübe (*Beta vulgaris*)

Wurzel

Radialschnitt

die andere:

Hämatoxylindauerpräparat

Glyzerin

Datum

Anfügen wollen wir noch, daß wir die Überführung des Schnittes auch mit Hilfe des Alkohols bewirken können. Hauptsächlich wird man zu dieser Methode greifen, wenn der Schnitt schon in Alkohol lag, sonst muß er zuerst in Alkohol gebracht werden. Im Uhrglas werden zwei Tropfen Glyzerin mit einer größeren Menge Alkohol vermischt, dann wird der Schnitt in diese Mischung übertragen. Der Alkohol verdunstet nun bald, und der Schnitt liegt in Glyzerin. Nicht zu empfehlen ist es, besonders nicht für den Anfang, die Mischung von Glyzerin und Alkohol gleich auf dem Objektträger vorzunehmen, den Schnitt hineinzubringen und nach dem Verdunsten des Alkohols mit dem Deckglas zu bedecken.

Vorteile und Nachteile des Glyzerineinschlusses. Der Einschluß der Objekte in Glyzerin ist verhältnismäßig einfach. Da Glyzerin sich mit dem Wasser in allen Verhältnissen mischt, ist eine Entwässerung des Objektes nicht erforderlich. Diese ist aber nicht nur umständlich, sondern erfordert auch die größere Vorsicht, damit die Objekte nicht verletzt werden.

Angewandt wird es hauptsächlich zum Einschließen ungefärbter Objekte, da es das Licht weniger stark bricht als Harze (die zum Einschluß Verwendung finden) und sie darum besser in ihren Einzelheiten erkennen läßt, und für solche Schnitte, die nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen dürfen, da dieser manche Farbstoffe schnell löst und auszieht.

Andererseits ist zu bedenken, daß Glyzerin mit der Zeit alle Farbstoffe angreift, einige aber schon in kurzer Frist zerstört.

Auch die Kalkkristalle werden durch das Glyzerin etwas beeinflußt.

17. Die Kartoffelknolle. Verkorkung.

Wir schneiden uns aus der Kartoffelknolle wie bei der Zuckerrübe ein prismatisches Stück heraus, aber so, daß eine Längsseite von der Schale der Kartoffel gebildet wird. Wie dort stellen wir auch von diesem Stück

eine Anzahl Schnitte her, die wir in Wasser aufbewahren. Wir sehen darauf, möglichst die Kartoffelschale im Schnitt unverletzt zu erhalten.

Das geeignetste Objekt schließen wir in einen Tropfen Wasser ein und beobachten unter dem Mikroskop (Fig. 8). Im Innern sehen wir ziemlich dickwandige Zellen, die mit den uns bekannten Stärkekörnern gefüllt sind. Die Menge dieser Körner wird nach dem Rande zu immer

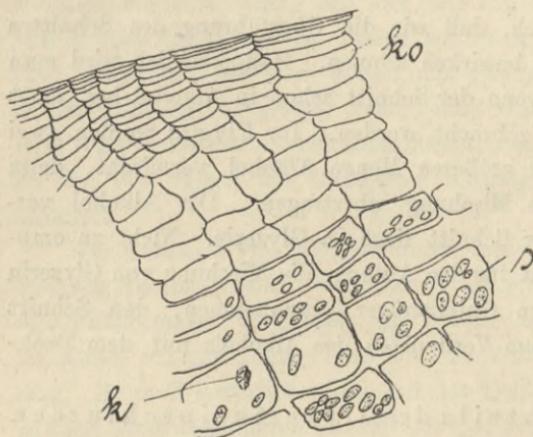


Fig. 8. Kartoffelknolle.

ko Verkorkung; k Kristalloid; s Stärkekörner.

geringer. Nach außen finden wir leere, dünnwandige Zellen, die sich sowohl in ihrer Form als auch in der Farbe ihrer Wände von den innen liegenden unterscheiden. Sie sind tafelförmig, ihre Wände erscheinen dunkel, während die der inneren Zellen hell sind. Zwischen den Stärkekörnern finden sich ganz vereinzelt anders geformte Körper; es sind Eiweißkristalle.

Vom Deckglasrand lassen wir einen Tropfen Chlorzinkjodlösung zum Präparat fließen. Wir verfolgen die Färbung und bemerken, daß die charakteristische Zellulosereaktion nur bei den dickeren inneren Zellwänden auftritt. Die Stärkekörner werden ganz dunkel. Die dünnen Wände der äußeren Zellen aber haben gelbbraune Färbung angenommen.

Ein anderes Präparat stellen wir her, indem wir den Wassertropfen durch einen Tropfen Kalilauge ersetzen. Wie uns bekannt ist, verquellen die Stärkekörner in dieser Flüssigkeit und verschwinden. Die Eiweißkörper lösen sich auf. So können wir die Zellwände deutlicher erkennen, als es vorhin möglich war. Die äußeren Zellschichten färben sich gelblich.

Diese Reaktionen deuten darauf hin, daß die Wände der äußeren Zellen verkorkt sind. Kork enthält fettartige Bestandteile. Wir versuchen an einem Schnitt das Reagens, das wir für Fette kennen lernten.

Wir fertigen das Präparat, indem wir den Schnitt einfach in einen Tropfen Alkannatinktur übertragen. Es zeigt sich, daß die verkorkten Zellwände rote Färbung annehmen, wenn sie auch nicht so stark hervortritt wie bei fettartigen Körpern.

Ein weiteres Objekt legen wir aus dem Wasser auf den trockenen Objektträger und fügen als Schutzleiste ein Glassplitterchen (ein Stück von einem Deckglas) hinzu. Dann lassen wir einen Tropfen *konzentrierte Schwefelsäure* darauf fallen und legen das Deckglas auf. (Besondere Vorsicht und Reinlichkeit ist erforderlich, damit von der Säure nichts an das Objektiv gelangt!) Unter dem Mikroskop verfolgen wir die Wirkung der Säure auf den Schnitt. Bis auf die Korksicht wird alles von ihr zerstört.

Wir wollen die Korkreaktionen bei dem *Flaschenkork* wiederholen. Um gute, brauchbare Schnitte zu erlangen, stellen wir sie *nur* schmal her, indem wir das Rasiermesser bald wieder aus dem Kork *herausgleiten* lassen. Die Schnittfläche müssen wir *gegebenenfalls* mit einem scharfen Taschenmesser eben machen.

Die Zellen des Flaschenkorks sind ebenfalls dünnwandig, aber *verhältnismäßig* groß. Wir finden fast kubisch geformte, an die sich flachere anschließen, worauf wieder die kubischen folgen. Die Wände der flacheren Zellen sind verdickter. Der Übergang ist allmählich.

Bei dem mit Kalilauge behandelten Schnitt suchen wir bei den dickeren Wänden verschiedene Schichten festzustellen. Die Mittelschicht ist verholzt, an sie schließen sich nach beiden Seiten Verdickungsschichten an, die verkorkt sind, darauf folgen die Zelluloseschichten, so genannt, weil sie ihren Zellulosecharakter teilweise bewahrt haben.

Wir untersuchen, ob bei dem mit Alkannatinktur gefärbten Präparat die fünf Schichten der verdickten Wände zu unterscheiden sind.

18. Der Samen der Erbse.

Zunächst wollen wir die Stärkekörner der Erbse kennen lernen. Die der anderen Leguminosen, z. B. der Bohnen, Linsen, Wicken, unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der Erbse; wir können die Erbse in unserer Untersuchung daher durch den Samen einer dieser Pflanzen ersetzen.

Wir schneiden eine Erbse mit dem scharfen Taschenmesser durch, kratzen von der Schnittfläche etwas Mehl ab und bringen es in einen Tropfen Glycerin auf dem Objektträger. Das Stärkekorn ist dickgedrungen, ellipsoidisch und *konzentrisch* geschichtet.

Ein zweites Präparat stellen wir her, indem wir statt des Glycerins Wasser als Einschlußflüssigkeit benutzen. In der Mitte des Stärkekorns ist jetzt im Innern ein starker Spalt zu sehen, von dem aus kurze, breite Spalten nach dem Umfange des Stärkekorns ausstrahlen.

Wir fügen dem Präparat *Jodlösung* hinzu, um auch hier die Stärkereaktion zu beobachten.

Um einen mikroskopischen Schnitt von der Erbse zu bekommen, verfahren wir folgendermaßen. Die Erbse wird zuerst mit Hilfe eines scharfen Messers in ihre beiden Keimblätter zerlegt, dann wird bei dem einen eine Schnittfläche hergestellt, die senkrecht auf der Innenfläche steht. Da wir die Erbse mit den Fingern nicht gut halten können, schneiden wir uns zwei Korkstücke, zwischen die wir sie klemmen können. Die Schnittfläche betupfen wir mit Glycerin, das Messer bekommt an der Ansatzstelle ebenfalls einen Tropfen Glycerin. Jetzt setzen wir das Messer an, aber nicht wie sonst am Rande des Objektes, sondern auf der Schnittfläche, und suchen nun *z i e h e n d* einen Schnitt zu gewinnen. Dringt das Messer zu tief ein, hören wir sofort auf zu schneiden. Der Schnitt ist ja doch verloren, beim Weiterschneiden würde die Messerschneide aber leicht auspringen. Der Schnitt braucht nicht groß zu werden; wir lassen das Messer schon bald wieder an die Oberfläche treten.

Für weitere Schnitte muß die Schnittfläche jedesmal mit dem Taschenmesser geebnet werden.

Wir schließen den Schnitt in einen Glycerintropfen ein. Die Beobachtung zeigt uns verhältnismäßig große Zellen, die mit großen, stark lichtbrechenden Körnern angefüllt sind, die an ihrer Schichtung als Stärkekörner erkannt werden. Zwischen ihnen liegt eine Menge bedeutend kleinerer gelblicher Körper. Alle Körper sind in eine *Grundsubstanz* eingebettet.

An den Deckglasrand bringen wir einen Tropfen *Jodlösung*. Die Stärkekörner färben sich blau. Die kleinen Körper und die Grundmasse werden gelb bis gelbbraun. Es ist dieses die Reaktion der *Eiweißkörper* auf *Jod*. Die kleinen Gebilde sind *Aleuronkörner*.

Die Eiweißkörner wollen wir mit *Boraxkarmin* färben. Dieses Reagens stellen wir her, indem wir in einer 4prozentigen wäßrigen Lösung von Borax durch Kochen 2—3 % Karmin auflösen, die gleiche Menge Alkohol von 70 % zufügen und nach längerem Stehen filtrieren.

Einen gut gelungenen Schnitt bringen wir in die Lösung, von der wir zu dem Zwecke etwas in ein Uhrglas geschüttet haben. Zum Färben genügen stets *geringe Mengen* des Farbstoffes. Da wir den Schnitt aber längere Zeit im Boraxkarmin lassen müssen, ist darauf zu achten, daß die Flüssigkeit nicht eintrocknet. Der Schnitt muß von der Farblösung gut durchtränkt werden, was bis zu einem Tage währen kann. Danach wird *nicht ausgewaschen*; die mit Boraxkarmin gefärbten Schnitte dürfen *nicht in Wasser* gebracht werden; denn dieses wäscht den

Farbstoff fast vollständig aus. Vielmehr bringen wir den Schnitt in ein anderes Uhrglas, in dem sich 70prozentiger, angesäuerter Alkohol befindet. Der Alkohol wird angesäuert durch 4—6 Tropfen Salzsäure, die zu 100 ccm hinzugefügt werden.

Im Alkohol bleibt der Schnitt, bis er hellrot geworden ist, was wieder längere Zeit erfordern kann. Aus dem sauren Alkohol kommt der Schnitt in neutralen. Darauf können wir ihn in einem Tropfen Glyzerin beobachten. Die Eiweißkörner sind schön rot gefärbt; die Stärkekörner bleiben farblos.

19. Einschluß in Kanadabalsam und Terpentin.

Für Kanadabalsam sind verschiedene Lösungsmittel im Gebrauch, z. B. Terpentinöl, Benzol, Xylol, Chloroform. Für die meisten Objekte ist Xylol am besten, Benzolbalsam wird schneller hart als Xylolbalsam, er würde also dann Verwendung finden müssen, wenn man sehr eilig ist; d. h. wenn man sehr bald ein untersuchungsfertiges Präparat haben will.

Der käufliche Kanadabalsam ist meist in Terpentinöl gelöst. Wir erwärmen ihn in einer Schale, bis er hart geworden ist. Die Temperatur dürfen wir dabei nicht zu hoch werden lassen, damit der Balsam sich nicht bräunt. Nach dem Erkalten lösen wir ihn wieder auf in Xylol. Je weniger Xylol man verwendet, je dicker also der Balsam ist, desto schneller trocknet er.

Zum Aufbewahren benutzt man zweckmäßig eine Flasche, die statt des Stopfens eine übergreifende Glaskappe besitzt, da der Stopfen leicht durch abgeträufelten Balsam festgekittet wird, welche Gefahr bei der Kappe weniger groß ist. Ist die Flasche doch einmal verklebt, muß man mit Xylol aufzuweichen suchen.

Vorteilhaft zu verwenden sind die T u b e n mit Xylolbalsam (oder mit anderem), die verschiedene Fabriken liefern (z. B. Merck-Darmstadt).

Xylolbalsam darf weder mit Wasser noch mit Alkohol in Berührung kommen. Das Wasser muß daher erst aus dem Schnitt entfernt werden. Zum Vertreiben darf man aber nicht ohne weiteres Xylol verwenden; denn auch damit verträgt sich das Wasser nicht. Wir müssen daher zuerst ein Mittel anwenden, das das Wasser verdrängen kann und sich also in jedem Verhältnis mit ihm mischt; das ist der A l k o h o l. Dann müssen wir zwischen Alkohol und Balsam noch ein I n t e r m e d i u m einschalten, das sich sowohl mit dem Alkohol wie mit dem betreffenden Balsam mischt und verträgt. Beim Xylolbalsam ist es Xylol.

Dadurch wird die Überführung eines Objektes in Balsam recht umständlich. Dazu kommt noch, daß man die Objekte nicht sofort in den

stärksten Alkohol bringen darf, da sie hierin schrumpfen. Nach den verschiedenen Umständen muß man mit mehr oder weniger schwachem Alkohol beginnen und in mehr oder weniger Stufen aufwärts schreiten. Die Stufen sind etwa: 50-, 70-, 90prozentiger, absoluter Alkohol.

Der absolute Alkohol ist unbedingt erforderlich. So wie er im Handel käuflich ist, ist er meist nur 98—99prozentig. Wasserfrei kann man ihn machen, wenn man geröstete Kupfersulfatstücke hineinbringt. Man näht die Stücke zu diesem Zweck am besten in ein leinenes Beutelchen. Die Flasche mit dem absoluten Alkohol muß stets fest verschlossen werden, da er sonst aus der Luft Wasser anzieht.

Wir wollen jetzt unser mit Boraxkarmin gefärbtes Objekt, den Schnitt von der Erbse, entwässern. Da er schon in 70prozentigem Alkohol lag, bringen wir ihn daraus in 90prozentigen, dann in absoluten. Er muß jedesmal so lange in der Flüssigkeit verweilen, bis er vollständig davon durchdrungen ist, was je nach Größe bis 24 Stunden dauert.

Würden wir den Schnitt nun ohne weiteres vom absoluten Alkohol auf Xylol legen, so würde der Alkohol an der Oberseite eher verdunsten, ehe das Xylol eingedrungen ist. Wir füllen daher in eine kleine Flasche mit weitem Hals etwas Xylol und gießen **v o r s i c h t i g**, z. B. an einem Glasstab entlang, an den R a n d des Glases, absoluten Alkohol darüber. Wenn wir jetzt unseren Schnitt in den Alkohol bringen, sinkt er sofort bis an die Berührungsstelle. Erst nach einiger Zeit ist er unten im Glase. Er ist aber erst vollständig von dem Intermedium durchdrungen, wenn sich die Schlieren vollständig verzogen haben, die durch die Mischung der beiden Flüssigkeiten entstehen.

Dann saugen wir den Alkohol ab, was bequem mit der folgenden Vorrichtung möglich ist, die wir uns leicht selbst herstellen können (Fig. 9). Ein Glasrohr wird zweimal rechtwinklig gebogen und an dem längeren Schenkel zu einer Spitze ausgezogen. Ein etwas kürzeres Rohr wird einmal rechtwinklig gebogen. Beide werden in einen doppelt durchbohrten Kork gesteckt, mit dem man einen Reagierzylinder schließen kann. Wird die Vorrichtung zusammengestellt, so kann man die ausgezogene Spitze in die abzusaugende Flüssigkeit halten, an dem zweiten Glasrohr saugen, und die Flüssigkeit wird in das Probierrglas befördert.

Die erste Menge des Intermediums hat aber etwas Alkohol aufgenommen, daher kommt der Schnitt noch einmal in das reine Intermedium.

Aus dem reinen Xylol bringen wir den Schnitt auf den Objektträger und geben gleich einen Tropfen Xylolbalsam darauf. Das Deckgläschen müssen wir so darauflegen, daß es vorher nicht von unserem Hauch getroffen wird, auch den Objektträger müssen wir davor zu schützen

suchen. Denn diese Menge Wasser würde genügen, das Präparat zu trüben.

Kleine Luftblasen schaden bei Balsampräparaten nicht; sie verschwinden bald von selbst. Stellen sich im Laufe der nächsten Wochen Lücken unter dem Deckglas ein, so geben wir einen Tropfen Balsam an den Rand des Deckglases, der dann eindringt.

Einen Abschluß nach außen brauchen wir beim Einschluß in Balsam nicht herzustellen, denn nach einigen Wochen ist er schon so hart geworden, daß man die Präparate auch in andere Lagen bringen kann. Vollständig erhärtet ist er allerdings manchmal erst viel später.

Hüten muß man sich namentlich davor, Kanadabalsampräparate ohne Schutzleisten aufeinander zu legen. Durch den stetigen Druck wird der noch nicht ganz feste Balsam hervorgepreßt und die Objektträger kleben zusammen.

Der Brechungskoeffizient des Kanadabalsams ist sehr groß. Die Feinheiten des Objektes verschwinden in ihm daher teilweise, desto besser aber treten die gefärbten Teile hervor, weshalb er auch zumeist bei gefärbten Objekten verwendet wird.

Für unseren Schnitt hätten wir auch ein anderes Einschlußmittel wählen können, das gewisse Vorteile bietet, beim Hämatoxin und bei allen Teerfarbstoffen aber nicht brauchbar ist.

Die Vorteile beruhen darin, daß der Brechungskoeffizient geringer ist und daß wir kein Intermedium nötig haben.

Käuflichen venezianischen Terpentin mischen wir mit der gleichen Menge 96prozentigem Alkohol, nach etwa 4 Wochen gießen wir die klare Lösung ab, in die wir die Objekte direkt aus dem Alkohol einbetten können. Ja, wir brauchen bei der Entwässerung nicht einmal bis zum absoluten Alkohol zu gehen; es genügt schon Alkohol von 96 %.

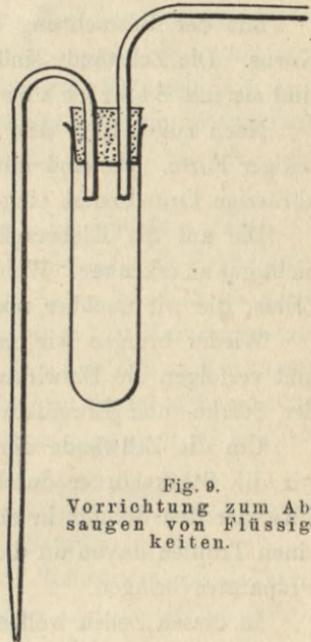


Fig. 9.
Vorrichtung zum Absaugen von Flüssigkeiten.

20. Das Roggenkorn.

Wir schneiden das Roggenkorn ähnlich wie die Erbse. Zunächst stellen wir mit dem scharfen Taschenmesser einen Schnitt quer durch das Korn

her, nehmen das Stück zwischen zwei Korkscheiben, befeuchten die Schnittfläche mit Glycerin und schneiden mit dem mit Glycerin befeuchteten Messer wieder so, daß wir nicht am Rande, sondern auf der Fläche beginnen. Nur muß unser Schnitt auch einen Teil der Oberfläche des Kornes enthalten. Wir beobachten den Schnitt wiederum in einem Tropfen Glycerin.

Mit der Betrachtung beginnen wir bei den inneren Teilen des Kornes. Die Zellwände sind dünn und nicht gut zu erkennen. Angefüllt sind sie mit Stärkekörnern. Es sind die Stärkezellen.

Nach außen folgt eine einfache Reihe dickwandiger Zellen von rechteckiger Form. Sie sind mit Aleuronkörnern angefüllt, die in eine körnerige Grundmasse eingelagert sind. Es sind die Kleberzellen.

Die auf die Kleberzellen folgenden Schichten der Samenhaut sind nicht gut zu erkennen. Weiter folgt die Fruchtschale. Es sind abgestorbene Zellen, die wir nachher noch genauer untersuchen wollen.

Wieder bringen wir einen Tropfen Jodlösung zu dem Präparat und verfolgen die Einwirkung. Wir erkennen die uns bekannte Färbung der Stärke- und Eiweißkörper.

Um die Zellwände der Stärkezellen hervortreten zu lassen, bringen wir die Stärkekörner durch Kalilauge zur Verquellung, indem wir entweder den Schnitt in einen Tropfen Lauge einbetten, oder indem wir einen Tropfen davon an den Deckelglasrand des mit Wasser hergestellten Präparates bringen.

In diesen Zellen wollen wir nun auch die Zellkerne sichtbar machen. Wir lernen dabei einen neuen Farbstoff kennen, der zu den Anilinfarben gehört. Die Anilin- oder Teerfarbstoffe sind beim Färben sehr ausgiebig, weshalb man sie in starken Verdünnungen und geringen Mengen verwendet. Chemisch ist unser Stoff das Chlorzinkdoppelsalz des Heptamethylpararosanilinchlorids und führt den Namen Methylgrün. Wir stellen eine Lösung her, bei der 1 g Salz in 100 ccm Wasser gelöst sind. In eine geringe Menge dieser 1prozentigen wässrigen Methylgrünlösung bringen wir auf 10 Minuten unseren Schnitt und waschen ihn darauf in Wasser aus. Alkohol zieht den Farbstoff aus; es ist deshalb mit Schwierigkeiten verknüpft, den Schnitt auf befriedigende Weise in Balsam überzuführen. Wollen wir doch ein solches Dauerpräparat erlangen, so bringen wir den Schnitt, nachdem er tüchtig ausgewaschen ist, auf eine Minute in Alkohol von 70 %, dann auf ebenfalls eine Minute in absoluten Alkohol, weiter durch Xylol in Balsam.

Die augenblickliche Beobachtung nehmen wir in einem Tropfen angesäuerten Wassers (1 % Essigsäure) vor.

Die Stärkekörner sind etwas aufgequollen, sonst aber unverändert

geblieben. Zwischen ihnen, wie auch zwischen den Eiweißkörpern, ist ein grünblauer Fleck sichtbar, der unregelmäßige Gestalt aufweist; es ist der Zellkern. Außer diesem sind auch die Zellwände gefärbt worden, sie sind jetzt auch deutlich sichtbar.

Methylgrün ist sehr geeignet, nach ihm oder mit ihm zusammen einen anderen Farbstoff anzuwenden, der dann andere Teile des Schnittes färbt. So erhält man eine Doppelfärbung. Wir wollen jetzt auch eine Doppelfärbung ausführen und benutzen als zweiten Farbstoff Säurefuchsin (Fuchsin S, Rubin S). Es ist ebenfalls ein Teerfarbstoff und zwar das saure Natron- oder Ammoniaksalz einer Rosanilin- oder Pararosanilinsulfosäure.

Im Verhältnis von 1 g Säurefuchsin zu 100 ccm Wasser stellen wir eine wäßrige Lösung her. Fuchsin ist noch ausgiebiger als Methylgrün. Wir bringen daher auf 3 Tropfen Methylgrünlösung im Uhrglas einen Tropfen Fuchsinlösung. In die Mischung legen wir auf 10 Minuten unseren Schnitt. Danach darf nur kurze Zeit, bis 2 Minuten (die Zeit muß man ausprobieren), in Wasser ausgewaschen werden. Fuchsin S wird nicht nur vom Wasser leicht aufgelöst, das Leitungswasser vermag es auch zu neutralisieren. Die neutralen Salze sind aber farblos.

Die Überführung in Balsam kann auf dieselbe Weise vorgenommen werden wie bei der einfachen Färbung mit Methylgrün.

Bei der Untersuchung finden wir, daß die Zellwände und Zellkerne wieder grünblau gefärbt sind. Die Aleuronkörper und die Grundsubstanz sind leuchtend rot geworden.

Methylgrün wird aus Methylviolett hergestellt; es enthält daher mehr oder weniger unzersetztes Methylviolett. Dieses färbt das Plasma, gutes Methylgrün sollte möglichst wenig Violett enthalten. Da wir in den Zellwänden von grüner Färbung gewöhnlich nichts bemerken, sie vielmehr hellblau erscheinen, so sind sie wahrscheinlich durch die blauen Bestandteile des Farbstoffes gefärbt. Man könnte ja auch annehmen, die Färbung der Zellwände sei gleichzeitig eine Rückverwandlung des Methylgrüns in Methylviolett.

Wir erkennen daraus, daß man aus auftretenden Farbreaktionen nicht immer Schlüsse ziehen kann auf die Natur der Vorgänge und weiter nicht auf das Vorhandensein bestimmter Stoffe im Objekt.

Wie man Methylgrün von Spuren des Methylvioletts befreit, wollen wir nicht erörtern, da für unsere Zwecke diese Spuren nicht schaden. —

Um die äußeren Zellschichten des Roggenkornes genauer untersuchen zu können, machen wir von der Oberseite einen feinen Längsschnitt und bringen ihn in einem Wassertropfen unter das Mikroskop. Wir beobachten

dann, daß die beiden äußeren Zellschichten des Korns aus hellen bestehen, die in der Längsrichtung des Korns gestreckt sind. Die Zellen der dritten Reihe sind in der Querrichtung des Korns gestreckt (Querzellenschicht). Wir betrachten die kurzen Wände der Zellen dieser Querzellenschicht und finden, daß sie stark verdickt sind. Weiter vergleichen wir die Länge der Längszellen mit der der Querzellen. Jene sind bedeutend länger als diese.

Lehrreich ist es, ein ähnliches Objekt zu untersuchen und die Unterschiede herauszustellen. Wir wollen deshalb ebensolche feinen Oberflächenlängsschnitte vom Weizenkorn herstellen (Fig. 10).

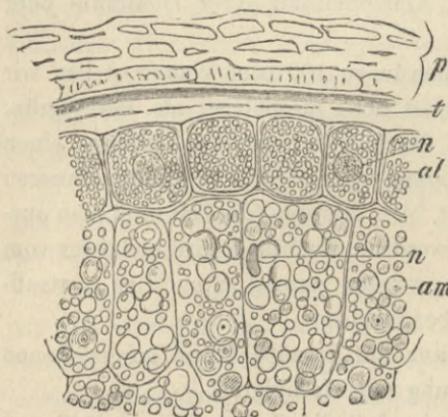


Fig. 10. Schnitt durch ein Weizenkorn.
p Fruchthaut; *t* Samenhaut; *n* Zellkern;
al Aleuronkörper; *am* Stärke (Amylum).

Auch hier finden wir dieselben Schichten. Aber die Wände weisen Verschiedenheiten auf. Die kurzen Wände der Querzellen sind nicht verdickt; dagegen sind die anderen Wände dicker als beim Roggenkorn. Sie sehen aus wie eine Perlenschnur. Das Aussehen kommt daher, daß sowohl Längs- wie Querzellen stark getüpfelt sind. Den Unterschied in der Länge der beiden Zellarten finden wir beim Weizenkorn nicht.

Wir stellen ein Präparat her, in dem wir sowohl Schnitte vom Weizen wie vom Roggen unter dem Deckglas haben und suchen nun zu bestimmen, was für Schnitte wir gerade unter dem Mikroskop sehen.

21. Der Samen des Rizinusbaumes.

An der Spitze des Samens des Rizinusbaumes ist eine weiße Wucherung, die sogenannte Kurunkula. Wir merken uns die Stelle und entfernen dann die Samenschale mit einem Taschenmesser. Wenn wir den Samen auf der Mitte der schmalen Seite öffnen, sehen wir, eingeschlossen in das Endosperm, den Keimling, der so lang ist wie das Endosperm und dessen Würzelchen der Kurunkula zugekehrt ist.

Wir wollen das Endosperm genauer untersuchen und stellen daraus Querschnitte her. Der Rizinussame ist sehr ölhaltig und schneidet sich leicht. Wir schneiden, ohne Schnittfläche und Messer anzufeuchten.

Einen frischen Schnitt legen wir auf den trockenen Objekt-

träger und decken ein Deckglas darüber. Bei der Beobachtung sehen wir sehr dünnwandige Zellen, angefüllt mit einer hellglänzenden Masse, in der sich Aleuronkörper finden. Die glänzende Masse ist mit Öl getränktes Cytoplasma.

Wir bringen einen Tropfen Wasser an den Rand des Deckglases. Das Mikroskop stellen wir hoch ein und sehen nun, wie das Öl in großen Tropfen austritt.

Um das Öl zu entfernen, legen wir einen neuen Schnitt in ein Uhrglas mit absolutem Alkohol. Nach einigen Minuten hat der Alkohol das Öl aufgenommen. Wir bringen den Schnitt dann in einen Tropfen Alkohol unter das Deckglas. Besser als vorhin sind die Zellwände sichtbar. In den Zellen liegen die Aleuronkörner. In den Eiweißkörnern bemerkt man eine oder mehrere kugelige Stellen, die das Licht schwächer brechen.

Wir bringen einen Tropfen 4prozentiger Ferrocyankaliumlösung an den Rand des Deckglases. Die Grundmasse löst sich. In den Aleuronkörpern erscheinen ein oder mehrere Kristalloide, an denen kleine Kugeln sitzen. Diese Kugeln sind die hellen Stellen, die wir vorher in dem Aleuronkorn wahrnahmen. Diese kugeligen Gebilde sind Globoide. Sie setzen sich aus einem Magnesium-Kalziumdoppelsalz einer gepaarten Phosphorsäure und organischer Substanz zusammen.

Zu diesem Präparat bringen wir einen Tropfen verdünnte Kalilauge. Wir müssen eine bestimmte Stelle des Präparates ins Auge fassen und beobachten, wenn die Kalilauge bis zu dieser Stelle vordringt. Wir sehen dann, daß die Kristalloide gelöst werden, die Globoide aber zurückbleiben.

Die Kalilauge saugen wir mit Fließpapier weg und lassen einen Tropfen 3prozentiger Essigsäure zum Präparat treten und bemerken, daß auch die Globoide gelöst werden. Jetzt treten Protoplasma und Saft Raum (oder Vakuole) der Zelle wieder deutlich hervor. Die Aleuronkörper entstehen aus dem eiweißhaltigen Inhalt der Saft Räume, der allmählich Wasser verliert und erhärtet. Globoide, Kristalloide, amorphe, feste Grundmasse sind die nacheinander ausgeschiedenen Teile.

Nun wollen wir bei einem anderen Schnitt das Öl deutlich hervortreten lassen. Wir bringen den Schnitt in einen Tropfen verdünnte Alkannatinktur, oder fügen einem im Wassertropfen liegenden Objekt vom Deckglasrande aus einen Tropfen verdünnter Alkannatinktur hinzu. Das Öl färbt sich alsbald rotbraun.

Um ein Dauerpräparat von dem Rizinussamen zu gewinnen, müssen wir zunächst dafür sorgen, daß die Bestandteile so erhalten bleiben, wie wir sie in dem unverletzten Schnitt haben. Wir müssen den Schnitt fixieren.

Dazu lösen wir Pikrinsäure in Alkohol (96prozentiger genügt) bis zur Sättigung. Es lösen sich etwa 7 g Pikrinsäure in 100 ccm Alkohol. In einer reichlichen Menge dieses Pikrinsäurealkohols hat der Schnitt mehrere Stunden zu verweilen. Dann muß mit Alkohol ausgewaschen werden. Pikrinsäure darf niemals mit Wasser ausgewaschen werden.

Nun kann der Schnitt mit einer sauren Anilinfarbe gefärbt werden. (Basische Anilinfarben dürfen nach Pikrinsäure nicht verwendet werden, da sie mit ihr Niederschläge geben.) Eine solche wäre ja z. B. Säurefuchsin. Aber die Pikrinsäure fixiert nicht nur, sondern färbt auch. In unserem Schnitt sind schon die Eiweißkristalle kräftig gelb gefärbt. Wir verwenden daher lieber einen Farbstoff, der diffus färbt; es ist Eosin, ein Alkalisalz des Tetrabromfluoresceins. Wir stellen — nur für unser Präparat — eine sehr verdünnte Lösung in Alkohol her, die etwa 0,1—0,2 % Farbstoff enthält. In eine geringe Menge bringen wir auf rund 4 Minuten den fixierten Schnitt. Darauf spülen wir mit Alkohol ab, führen durch absoluten Alkohol in Xylol und betten aus diesem in Xylolkanadabalsam ein.

Das fertige Präparat zeigt die Eiweißkristalle gelb, die Grundsubstanz dunkelrot, die Globoide aber ungefärbt.

Wenn das Objekt in Wasser gebracht werden darf — und das ist meistens der Fall — wendet man die Pikrinsäure in wäßriger Lösung an (es lösen sich etwa 1,25 g in 100 ccm Wasser). Ausgewaschen werden muß mit Alkohol. Wäscht man lange genug mit Alkohol, so wird alle Pikrinsäure entfernt. Ein Erfolg, der doch auch beim Auswaschen mit Wasser erreicht würde. Der Unterschied ist nur der, daß die mit Wasser ausgewaschenen Schnitte sehr weich werden, wodurch sie Schaden leiden. Ein Vorteil der Pikrinsäure als Farbstoff, den sie vor den Teerfarbstoffen voraus hat, ist der, daß die erzielte Farbe im Balsam unbegrenzt haltbar ist.

Die Färbungen können gegliedert werden in solche, bei denen alle Elemente des Objektes gefärbt werden, das sind die diffusen Färbungen, und in solche, bei denen nur einzelne Elemente gefärbt werden, die anderen aber ungefärbt bleiben oder doch wenigstens anders gefärbt sind, sie heißt spezifische oder elektive Färbung.

Eine diffuse Färbung könnte man anwenden, um z. B. Zellzwischenräume sichtbar zu machen, da sie zwischen der gefärbten Masse hervortreten müßten. Sonst haben sie nur Bedeutung in Verbindung mit anderen Färbungen, wie wir es in unserer Übung vorgenommen haben.

Von außerordentlicher Größe sind die Eiweißkörper in dem ölreichen Endosperm der Paranaß, die in Drogenhandlungen zu haben ist. Auch

diese schneiden wir trocken. Wollen wir aus einem Schnitt das Öl entfernen, müssen wir ihn auf 1—2 Tage in Alkohol bringen. Er greift das Öl der Paranaß nicht an, verdrängt es aber allmählich. Dann wiederholen wir die Eiweißreaktionen, die wir beim Rizinussamen ausführten. Wir suchen auch die Unterschiede der Gebilde bei beiden Objekten — an der Hand unserer Zeichnungen — auf. Die Globoide sind hier zusammengesetzt aus mehreren abgerundeten Gebilden.

22. Die Nadel der Kiefer.

Statt der Kiefernadel können wir auch die einer anderen Nadelholzart verwenden; sie sind zwar nicht vollständig gleich gebaut, aber im wesentlichen ist Übereinstimmung vorhanden.

Um Querschnitte aus der Nadel gewinnen zu können, müssen wir sie zwischen Holundermark legen. Wir teilen ein einige Zentimeter langes Stück Mark mit dem Rasiermesser der Länge nach in zwei gleiche Teile. Damit die Nadel zwischen den Stücken nicht zu sehr gedrückt wird, bringen wir in der Mitte der Holundermarkstücke eine Vertiefung an, indem wir eine Präpariernadel oder auch eine Stecknadel dazwischen pressen. In diese Rille legen wir die Kiefernadel, fügen das andere Stück darauf und fassen das Ganze mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand. Das vorstehende Stück der Kiefernadel schneiden wir weg. Dann befeuchten wir Messer und die obere Fläche des Holundermarks und führen einen Schnitt durch Mark und Kiefernadel, hören aber nicht etwa auf, wenn die Nadel, aber noch nicht der Rest des Markes durchschnitten ist. Der erste Schnitt ist nicht zu gebrauchen. Die folgenden Schnitte sammeln wir in einem Uhrschälchen mit Wasser.

Wir bringen mehrere Schnitte in den Wassertropfen auf dem Objektträger und legen ein Deckglas auf. Sollten sich die Schnitte zusammen oder übereinanderlegen, so bringen wir sie einfach ins Uhrglas zurück, reiben den Objektträger trocken und fertigen das Präparat von neuem an.

Zuerst suchen wir in unserem Objekt die Oberhaut auf (Fig. 11). Die Zellen sind ziemlich lang gestreckt; ihre Wände sind stark verdickt. Verfolgen wir die Oberhautzellen, so finden wir eine, die kürzer ist; darauf folgt eine Lücke. Es ist ein Grübchen auf der Oberfläche, an dessen Grunde sich eine Spaltöffnung befindet. Wir suchen an den Schließzellen die Stelle, an der sie die Epidermis berühren. Sie ist dünn und kann als Gelenkdienen beim Öffnen und Verschließen der Spalte. Hinter der Spaltöffnung liegt ein freier Raum, die Athemhöhle.

Unter der Oberhaut erblicken wir Faserstränge (Sklerenchym-

faseren). Darauf folgen Zellen mit grünen, eingelagerten Körnern (es ist das chlorophyllführende Parenchym). Dazwischen finden sich Zellzwischenräume, die von Sekretzellen und Fasern umgeben sind, die sogenannten Harzgänge.

Auf das chlorophyllführende Parenchym folgt nach innen das farblose Grundgewebe oder das stärkeführende Parenchym. Die

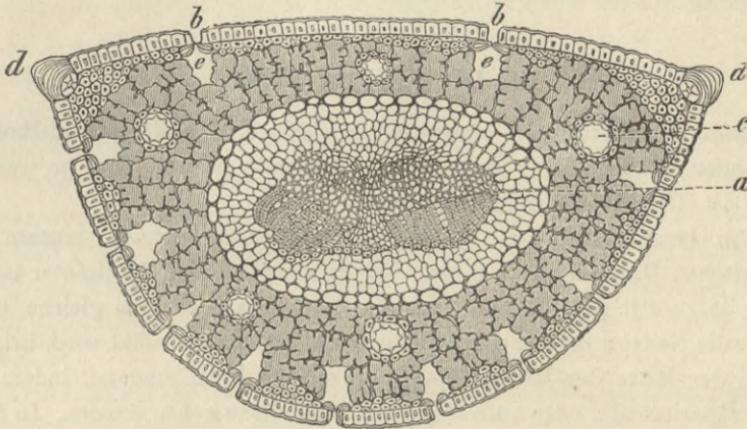


Fig. 11. Durchschnitt durch eine Kiefernadel.

a Blattadern; *b* Spaltöffnungen; *c* Harzgänge; *d* eigentümlich geformte Zellen mit Wandverdickung; *e* Atemhöhlen.

ersten Zellen dieser Schicht liegen lückenlos aneinander und führen daher auch den Namen Stärkescheide. Im Innern findet sich der Zentralzylinder.

Da wir hier ein Objekt mit den verschiedensten Elementen vor uns haben, können wir daran sehr gut das Zeichnen eines Gebildes üben, dessen Einzelheiten wir bei ein und demselben Schnitt meist nicht sämtlich deutlich erkennen können. Im folgenden wollen wir ein Hilfsmittel für das mikroskopische Zeichnen kennen lernen.

23. Der Zeichenapparat nach Abbe.

Der Zeichenapparat (Fig. 12) soll das Bild der Zeichenebene mit dem Bilde des Objektes im Mikroskop vereinen, so daß man also nur nötig hat, die Umrisse des Objektbildes nachzuziehen. Er besitzt deshalb seitwärts einen Spiegel, der so eingestellt werden kann, daß er mit der Senkrechten einen Winkel von 45° bildet. An einer Marke ist kenntlich, wann er diese Stellung hat. Vom Spiegel kommen die Lichtstrahlen zu einem Doppelprisma, das über dem Okular steht. Die Hypotenusenflächen der beiden

Prismen sind aneinander gekittet. Die Hypotenuse des oberen Prismas ist versilbert, so daß eine Spiegelfläche entsteht, die unter 45° nach oben gerichtet ist. In der Mitte der Silberschicht befindet sich ein kleines Loch, durch das man das Objekt sehen kann. So werden im Auge die Bilder der Zeichenebene und des Objektes vereinigt. Das Doppelprisma läßt sich in seiner Fassung zur Seite schlagen, wie es die Abbildung zeigt. Dann ist das Okular für direkte Beobachtung frei. Zwei Rauchgläser sind in Ringe gefaßt, die so befestigt sind, daß sich die Gläser zwischen Spiegel und Prisma bringen lassen. Dadurch wird es möglich, die Helligkeit des Bildes der Zeichenfläche zu regulieren und der des Objektbildes anzupassen.

Vermittels eines Klemmrings wird der Apparat am Tubus befestigt. Wir lassen den oberen Rand des Ringes mit dem Tubusrande abschließen.

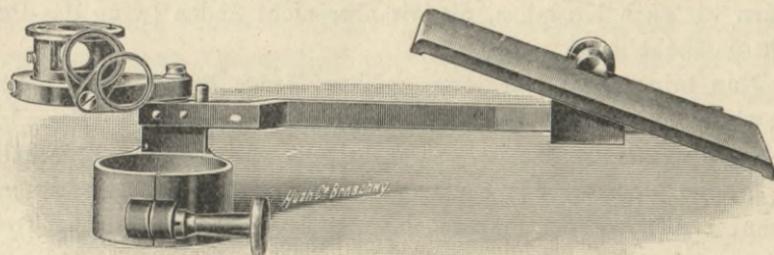


Fig. 12. Zeichenapparat nach Abbe.

Wenn wir mit dem linken Auge mikroskopieren, müssen wir den Spiegel mit dem Tubus so weit nach vorn drehen, daß er uns nicht stört. Unter den Spiegel legen wir unser Zeichenblatt und zeichnen mit einem sehr spitzen Bleistift. Wird die Bleistiftspitze undeutlich gesehen, so liegt die Zeichenebene nicht in der deutlichen Sehweite des Beobachters. Die Fläche muß dann höher gelegt werden. Die richtige Höhe muß ausprobiert werden, indem man etwa Bücher unter den Zeichenblock legt. Sie ist bei den verschiedenen Menschen verschieden. (Die Angaben des Optikers über Vergrößerung beziehen sich auf eine Bildweite von 250 mm. Die Bildweite setzt sich hier zusammen aus der Entfernung der Zeichenebene von der Spiegelachse und der der Spiegelachse von dem Prisma.)

Nachdem wir so durch Probieren die richtige Höhe der Zeichenebene gefunden haben, auch erreicht haben, daß die Zeichenebene mit der Bleistiftspitze die richtige Helligkeit aufweist, zeichnen wir, indem wir mit dem Bleistift den Konturen des Bildes folgen. Diese Skizze muß ohne Zeichenapparat vervollständigt werden. Man kann einfach so lange das Doppelprisma zurückschlagen, um nachher mit Hilfe des Zeichenapparates die Zeichnung mit dem Objektbilde vergleichen zu können.

24. Zimtpulver.

Der Zimt kommt in mehreren verschiedenen Sorten in den Handel, deren Elemente im mikroskopischen Bilde sich aber wenig unterscheiden. Die Bestandteile des Zimtpulvers weisen aber charakteristische Merkmale auf, die sie von häufigen Verfälschungen deutlich unterscheiden. Wir wollen ein Präparat anfertigen und mit Hilfe des Zeichenapparates recht genaue Bilder von den Elementen gewinnen.

Zunächst bringen wir eine Spur des Pulvers auf dem Objektträger in einen Wassertropfen, legen das Deckglas auf und suchen das Präparat unter dem Mikroskop nach Stärkekörnern ab. Wir verwenden Jodlösung als Reagens und bringen einen Tropfen davon an den Deckglasrand. Weiter suchen wir nach Kristallen, die wir aber nicht finden (wenn das Pulver nicht gefälscht ist!).

Nun bringen wir eine etwas größere Menge Pulver in Alkohol, den wir nach einiger Zeit durch Eau de Javelle ersetzen. Darin bleibt es, bis es weiß geworden ist. Dann bringen wir es in ein Uhrschildchen mit Wasser, dem wir einen Tropfen Essigsäure zugesetzt haben. Darauf stellen wir ein Präparat her, zu dem wir wieder einen Tropfen Wasser verwenden.

Auch in diesem Präparat sind kleine Kristalle sichtbar. Wir suchen die langgestreckten Gebilde auf; es sind äußerst dickwandige Sklerenchymfasern. Weiter finden sich Steinzellen mit einseitig nach innen verdickten Wänden.

Der Zimt wird oft mit Baumrindenpulver und Zigarrenkistenholz verfälscht.

Finden sich Kristalle und Kristalldrüsen von oxalsaurem Kalk (wir prüfen sie mit Essigsäure und mit Salzsäure, vgl. S. 29), so ist Holzmehl beigemischt worden. Außerdem findet man auch wohl Gefäße oder andere Teile des Holzes, die mit Tüpfeln bedeckt sind. Da Tüpfel im Zimt nicht vorhanden sind, muß also Holzpulver beigemischt sein. Wir stellen dann noch ein ungebleichtes Präparat her und untersuchen die Farbe der Holzteile. Sind sie nicht gelb oder braun, sondern eigentümlich rötlich gefärbt, so ist wahrscheinlich Zigarrenkistenholz verwendet worden.

Die Sklerenchymfasern der Verfälschungen weisen anderen Bau auf als die des Zimts, was wir besonders mit Hilfe unserer Zeichnung feststellen können.

25. Die Wurzel der Gartenzwiebel.

Um das Material für unsere Untersuchung zu erlangen, müssen wir einige Wochen vor der Übung Gartenzwiebeln kultivieren. Man kann sie in Hyazinthengläsern in Wasser bringen oder auf folgende Weise verfahren. Wir biegen drei Stecknadeln zu einem doppelten Haken, binden an jeden einen Faden und stecken die Haken an drei Seiten in die Mitte der Zwiebel. Die Fäden werden zusammen an einen Glasstab (Federhalter, Stäbchen) gebunden, den man über ein Wasserglas oder ein Einmacheglas legt. Die Zwiebel muß dann im oberen Teil des Glases hängen. Nun wird Wasser hineingeschüttet, bis die untere Hälfte der Zwiebel davon umgeben ist. Von Zeit zu Zeit muß Wasser nachgegossen werden. An einem warmen Orte wächst die Zwiebel bald.

Wir schneiden Stücke der Wurzel ab und bringen sie zuerst in etwa 60prozentigen, dann 80prozentigen (auf je einige Tage), endlich in 96prozentigen Alkohol, in dem sie aufbewahrt werden können. Die Gläser müssen mit einem Pfropfen verschlossen werden.

Beim Schneiden legen wir die Stücke, die wir nicht gerade schneiden, in den Alkohol zurück. Wir schneiden zwischen Holundermark. Messer und Mark werden dabei mit Alkohol angefeuchtet. Die Schnitte legen wir in ein Uhrgläschen mit etwa 70prozentigem Alkohol. Vom Messer entfernen wir sie mit einem weichen Pinsel.

Zur Untersuchung bringen wir die Schnitte in einen Tropfen Glycerin. Zunächst überzeugen wir uns, ob wir auch wirkliche Querschnitte erhalten haben. Sind die Zellen längs gestreckt und nicht rund, so wurde der Schnitt schräg geführt. Dieser Schnitt ist nicht zu gebrauchen; wir fertigen dann neue an.

Mit der Beobachtung beginnen wir am äußeren Rande. Die äußeren Zellen sind nach außen vorgewölbt. Sie bilden die Oberhaut oder Epidermis. Die äußeren Wände sind nicht verdickt. Die darauf folgende Zellschicht ist etwas radial gestreckt. Ihre Seitenwände zeigen dunkle Schatten. Es ist die Ektodermis. Dann folgt ein an Zwischenzellräumen reiches Grundgewebe, das Rindenparenchym. Danach folgt wieder eine Zellage, deren Zellen ohne Zwischenräume aneinander schließen. Auch hier sind die Radialwände verdickt. Dieselbe heißt Kernscheide oder Endodermis. Woraus die Radialwände der Kernscheide und Ektodermis bestehen, sehen wir durch folgenden Versuch.

Wir bringen einen Schnitt in einen Tropfen Wasser unter das Deckglas, vergessen aber nicht, Schutzleisten — am besten aus Deckglassplittern — unterzulegen. An den Rand des Deckglases bringen wir vorsichtig einen

Tropfen Schwefelsäure, nachdem wir Ektodermis und Endodermis in unserem neuen Präparat aufgefunden haben. Wir können dann beobachten. Von den bisher betrachteten Zellagen bleibt nichts übrig als die verdickten Radialwände von Ektodermis und Endodermis, die verkorkt sind.

Wir untersuchen nun unser erstes Präparat wieder. Es folgt innen der Zentralzylinder. In der Mitte finden sich weite Treppengefäße. An ein Gefäß (oder auch an einige) schließen sich andere an, die noch nicht ausgebildet sind. Auf die Treppengefäße folgen, jedesmal an einem Treppengefäß anliegend, Gruppen enger Schrauben- und Ringgefäßtracheiden. Der übrige Raum des Zentralzylinders wird von Siebteilen eingenommen, die durch Grundgewebszellen von den Gefäßteilen getrennt sind. Auch zwischen Endodermis und Siebteil findet sich eine Zellschicht (Perikambium oder Pericykel).

Zu dem Objekt lassen wir jetzt alkoholische Phlorogluzinlösung treten, indem wir das Glyzerin an der anderen Seite des Deckglases mit Fließpapier wegsaugen. Statt dessen können wir auch einen neuen Schnitt gleich in einen Tropfen dieser Lösung bringen. Nach einigen Minuten lassen wir dann einen Tropfen Salzsäure unter das Deckglas dringen. Fertigten wir ein zweites Präparat an, so brauchen wir das Deckglas erst aufzulegen, wenn die Salzsäure hinzugefügt ist.

Phlorogluzinlösung ist ein Reagens auf verholzte Stoffe. Wir sehen die verholzten Wände der Treppengefäße sich rot färben.

Wir zeichnen nacheinander die einzelnen Elemente des Querschnittes und stellen daraus dann ein Bild vom Querschnitt zusammen.

Um eine deutliche Einsicht in den Bau der Wurzelemente zu gewinnen, müssen wir auch Längsschnitte betrachten. Wir legen ein kurzes Stück der Wurzel quer zwischen die Holundermarkstücke und schneiden parallel zur Achse der Wurzel. Die Schnitte sind nur zu gebrauchen, wenn die Zellen der Länge nach durchschnitten sind. Haben wir schräg statt parallel geschnitten, so ist das nicht der Fall. Wir müssen dann neue Schnitte anfertigen. Um alle Elemente betrachten zu können, müssen wir eine Reihe aufeinander folgende Schnitte untersuchen. Besonders lenken wir unser Augenmerk auf die Treppengefäße, die lange Röhren bilden, deren Wände Tüpfel aufweisen.

26. Das Blatt des Tees.

Da wir nicht das ganze Jahr grüne Pflanzenblätter zur Verfügung haben, wollen wir das Schneiden und das Beobachten eines Schnittes vom Blatt an den Teeblättern üben.

Bei stärkeren Organen haben wir drei verschiedene Schnittrichtungen kennen gelernt. Da das Blatt körperlich ist, wird es natürlich auch bei ihm drei Schnittrichtungen geben. Es sind die folgenden: 1. Der Schnitt parallel zur Fläche des Blattes: der *Flächenschnitt*. Bei dünnen Blättern ist der Schnitt oft nicht möglich; man kann dann oft das Blatt ohne weiteres beobachten oder nachdem man es aufgehellt hat (wie wir es beim Tabakblatt ausführten). 2. Der Schnitt quer durch die Dicke des Blattes und senkrecht zur Längsachse: der *eigentliche Querschnitt*. 3. Der Schnitt quer durch die Dicke des Blattes und parallel zur Längsachse: der *Längsquerschnitt* oder kurz: der *Längsschnitt*.

Aus dem Tee suchen wir uns einige große Blätter heraus und bringen sie in warmes Wasser oder besser noch in kaltes, das wir kurz zum Aufkochen bringen. Dann können wir die Blätter aufrollen, ohne daß sie zerbröckeln, denn sie sind weich geworden.

Wir wollen zuerst einen Querschnitt herstellen und schneiden deshalb ein Stück aus dem Blatt heraus, dessen Längswände parallel zur Längsachse laufen. Am einfachsten nehmen wir ein Stück, das die Mittelrippe des Blattes enthält.

Dieses Stück wird so zwischen Holundermark gelegt, daß die Mittelrippe (oder die Parallele zu ihr) in die Längsachse des Holundermarkstückes zu liegen kommt. An den Rändern darf das Blatt nicht über das Holundermark vorstehen, da sonst beim Schneiden leicht Zerreißen eintreten.

Messer und Schnittfläche werden beim Schneiden mit Wasser angefeuchtet. Man muß das Holundermark so fassen, daß das Blattstück von der breiten Seite getroffen wird. Zuerst ist wieder eine glatte Fläche zu gewinnen. Die folgenden Schnitte kommen in ein Uhrglas mit wenig Eau de Javelle. Nach 5—10 Minuten sind die Schnitte weiß geworden. Dann bringen wir sie vorsichtig, sie sind sehr weich geworden, in ein Uhrglas mit Wasser, das durch einen Tropfen Essigsäure angesäuert wurde.

Nach kurzem Abspülen in neutralem Wasser werden die Schnitte in einen Glycerintropfen eingebettet und mit dem Deckglas bedeckt.

Wir untersuchen jetzt zuerst, ob unsere Schnitte auch dünn genug geworden sind, sonst bleibt uns nichts übrig, als neue anzufertigen. Auch bei diesem flächenhaften Objekt ist es unbedingt erforderlich, daß mit ziehendem Messer geschnitten wird, das merken wir an den Rändern, wenn wir anders verfahren: sie sind zerrissen.

Ist unser Schnitt gut gelungen, so betrachten wir zuerst die Oberhaut, deren Zellwände nach außen verdickt sind. Die Oberhaut ist einzellig. Weiter suchen wir in ihr nach den Spaltöffnungen. Die nach innen folgenden

Zellen sind länger gestreckt; wir vergleichen die der Ober- und Unterseite miteinander (Parenchym). Wir suchen die Leitbündel auf. Auffallend gestaltet sind die Sklerenchymzellen, die das Blatt von einer Epidermis zur anderen durchziehen, sehr dickwandig sind und eigenartig knorrige Gestaltung aufweisen. In einer ganzen Anzahl Zellen finden sich Kristalldrüsen von oxalsaurem Kalk.

Jetzt wollen wir einen Schnitt mit Hämatoxilin färben. Wir verdünnen unsere Lösung ein wenig, damit sie nicht zu schnell färbt, bringen einen Schnitt hinein, spülen nach einer halben Minute ab und untersuchen im Wassertropfen, ob die Färbung schon weit genug gediehen ist. Sonst bringen wir den Schnitt in die Farblösung zurück. Durch Probieren finden wir den richtigen Augenblick, in dem die Färbung vollbracht ist.

Kern, Plasma und Membran werden durch die Hämatoxilinlösung gefärbt, aber so, daß sie deutlich voneinander abstechen.

27. Das Holz der Kiefer.

Wenn man sich für diese Übung kein frisches Material verschaffen kann, so ist es auch zugänglich, Holz von trockenen Stämmen zu verwenden, das man beim Schreiner haben kann.

In beiden Fällen müssen wir geeignete Stücke in Alkohol einlegen. Dabei ist zu bedenken, daß kleine Stücke zur Herstellung von Schnitten genügen, daß wir also auch keine ganzen Balken zuzubereiten brauchen, wodurch wir nur Alkohol verschwenden würden.

Wir wollen Schnitte vom Holz und Bast untersuchen. Das Holz soll uns Quer-, Radial- und Tangentialschnitte liefern. Unser kleines Klötzchen, das wir in Alkohol aufheben, richten wir gleich so ein, daß die drei Schnittflächen vorhanden sind.

Um das harte Holz schneiden zu können, legen wir es auf mindestens 24 Stunden in eine Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Glycerin, um es etwas weicher zu machen. Trotzdem ist das Schneiden noch nicht leicht und erfordert die größte Vorsicht, da sonst nicht nur der Schnitt, sondern auch das Messer in Gefahr kommt. Das Messer muß vorher abgezogen werden, damit es sehr scharf ist. Die Schnitte brauchen nur sehr klein zu sein. Wir verfahren also wieder so wie bei der Erbse, wir schneiden nicht über die ganze Fläche, sondern setzen oben auf der geebneten Fläche das Messer auf und lassen es bald wieder aus dem Holz herausgleiten. Dringt es zu tief ein, so hören wir gleich auf zu schneiden, da der Schnitt doch verloren ist, weil wir nur sehr dünne Schnitte gebrauchen können; wir würden sonst das Messer in Gefahr bringen.

Mit bloßem Auge und Zuhilfenahme einer Lupe betrachten wir zuerst den Querschnitt eines Kiefernstammes. In der Mitte finden wir das Mark, aber in äußerst geringer Menge. Es ist umgeben von dem Holzteil, der die Hauptmasse des Stammes ausmacht. Durch eine dunkle Linie (Kambium) ist der Bast vom Holz getrennt. Bast und Holz werden von Markstrahlen durchzogen. Der Holzteil weist Jahresringe auf, die aus einem inneren, helleren und einem äußeren, dunkleren Ringe zusammengesetzt sind. Im Holzteil werden außerdem Öffnungen sichtbar, die in der Nähe der Markstrahlen liegen; es sind Harzgänge.

Einen Querschnitt bringen wir im Glycerintropfen unter dem Mikroskop zur Beobachtung (Fig. 13).

Er zeigt einen zelligen Bau. Die Teile des Jahresringes, die heller gefärbt sind, also innen liegen, zeigen gleichmäßig weite Elemente. In den äußeren sind sie abgeflacht, haben aber dickere Wandungen. Die meist rechteckigen Elemente liegen in radialen Reihen. Von außen schieben sich Reihen dazwischen. An das Spätholz des einen Jahres schließen sich ohne Vermittlung wieder die weiteren Rechtecke des nächsten Frühjahrs an. Die Elemente sind *Tracheiden*, das sind abgestorbene Gebilde. An den radialen Wänden finden sich *Hoftüpfel*. Zwei äußere Spitzen schieben sich an der Stelle einander entgegen, ohne sich zu berühren, zwischen ihnen verläuft eine dünne Schließhaut, die in der Mitte zu dem sogenannten *Torus* oder *Polster* verdickt ist. An den tangentialen Wänden sind nur selten *Hoftüpfel* zu finden.

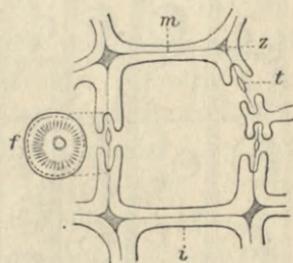


Fig. 13.
Querschnitt durch eine Tracheide der Kiefer.
i Grenzhäufchen; *m* Mittel-
lamelle; *t* verdickte Mittel-
wand; *z* Zwickel; *f* Tüpfel in
Flächenansicht.

Zwischen den radialen Reihen der Tracheiden verlaufen die Markstrahlen, von denen einige leer sind und zur Wasserleitung dienen, andere aber protoplasmatischen Inhalt haben oder Stärke führen. Die mit Inhalt versehenen Reihen haben längere Zellen mit dünnen Wänden. Sie stehen mit den Tracheiden durch Tüpfel in Verbindung, die nur in der Tracheide einen Hof besitzen und deren Schließhaut ohne Polster ist. Die anderen Reihen haben kürzere Zellen mit dickeren Wänden. Die Zellen stehen unter sich und mit den Tracheiden durch echte, zweiseitig behofte Tüpfel in Verbindung.

In der Nähe finden wir Zellzwischenräume, die von *Sekretzellen* und stärkeführenden Parenchymzellen umgeben sind; es sind die Harzgänge, die in frischem Holz mit Harz gefüllt sind, das durch den Alkohol aber entfernt wird.

An einem Schnitt wollen wir die Holzstoffreaktion beobachten. Wir legen ihn einige Zeit in alkoholische Phlorogluzinlösung, betten ihn in einen Wassertropfen ein und lassen vom Deckglasrande einen Tropfen Salzsäure hinzutreten. Die Wände der Zellen färben sich sofort rot.

Zu einem anderen Präparat bringen wir Chlorzinkjodlösung. An den Wänden ist eine verschiedene Färbung zu beobachten. Die mittlere Schicht, deren Fortsetzung die Schließhaut der Tüpfel ist, hat sich gelb gefärbt. An die gelbe Lamelle schließt sich zu beiden Seiten eine dunkel gefärbte, auf die wiederum eine meist blau gefärbte Grenzhaut folgt.

Jetzt stellen wir tangentielle Längsschnitte des Kiefernholzes her. Die Tracheiden sind langgestreckte Gebilde mit Hoftüpfeln auf den radialen Wänden. Die durchgeschnittenen Tüpfel sehen hier gerade so aus wie beim Querschnitt. Die Markstrahlen bestehen aus Zellen mit tracheiden Wänden (Fig. 14).

Die Schnitte der radialen Fläche zeigen uns Flächenansichten der Hoftüpfel. Sie erscheinen als zwei konzentrische Kreise. Die Markstrahlen zeigen, soweit sie Wasser führen, nach innen vorspringende Verdickungsleisten.

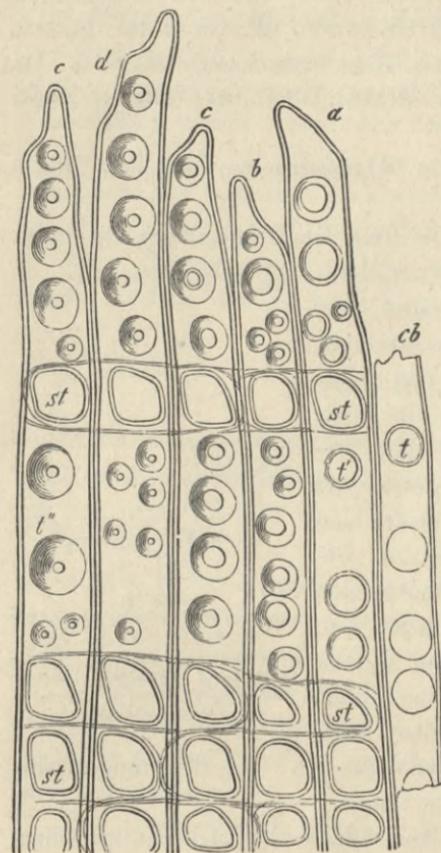


Fig. 14.

Längsschnitt durch das Holz eines kräftig wachsenden Zweiges der Kiefer. *t t''* Hoftüpfel der Holzzellen; *a-e* Holzzellen des Kambiums; *st* große Tüpfel, da wo Markstrahlen an den Holzzellen liegen.

An den stärkerführenden Strahlen sind jetzt auch die großen einseitig behafteten Tüpfel in der Flächenansicht sichtbar.

Nun stellen wir Schnitte aus dem Bast her. Zuerst untersuchen wir einen Querschnitt. Durch das Kambium setzen sich die radialen Reihen im Bast fort. In der Nähe des Kambiums sind alle Elemente mit körnigem Inhalt versehen. Weiter nach außen tritt er von der Mitte zurück und bedeckt nun noch die Wände. Diese Siebröhren haben recht-

eckige Gestalt wie die Tracheiden. Dazwischen zeigen sich Bänder, deren Zellen reichen Inhalt aufweisen, Stärke und Kristalle enthalten (Parenchymzellen). Die Markstrahlen sind entweder mit einem feinkörnigen Inhalt angefüllt (Eiweiß), oder ihre in diesem Falle länger gestreckten Zellen enthalten Stärke.

Weiter untersuchen wir einen Radialschnitt und richten unser Augenmerk vornehmlich auf die durchlöcherten Wände der Siebröhren mit den Siebtüpfeln. Wir färben den Schnitt mit Hämatoxilinfärbung.

28. Mazeration des Kiefernholzes.

Um einen genauen Einblick in den Bau der Elemente zu erlangen, ist es oft vorteilhaft, sie aus ihrer festen Verbindung loszulösen, um sie isoliert untersuchen zu können.

Manchmal genügt es, die Teile des Objektes mit den Nadeln zu zerzupfen. Meist ist es aber nicht ausreichend, da die Elemente dabei verletzt werden würden, weil der Kitt zwischen den Elementen oft fester ist als die Elemente selbst. Dann muß man den Kitt auflösen oder doch erweichen, so daß sich die Elemente lösen lassen, wobei die Elemente aber, die isoliert werden sollen, gleichzeitig konserviert werden müssen. Diesen Vorgang nennt man das Mazerieren. In den nächsten Übungen wollen wir verschiedene Objekte mazerieren und ihre Elemente dann beobachten.

Zur Mazeration des Holzes wenden wir das Schulze'sche Verfahren an. Da die dabei entweichenden Dämpfe das Instrument angreifen, dürfen wir nicht in demselben Zimmer damit arbeiten, in dem das Mikroskop steht.

Wir stellen einen nicht zu dünnen radialen Längsschnitt aus dem Kiefernholz her. In einem Probierzylinder übergießen wir ein wenig chlorsaures Kali mit so viel Salpetersäure, daß das Salz davon bedeckt wird. Dann bringen wir unseren Schnitt hinein und erwärmen über einer Flamme, bis lebhaft Gas entweicht. Nachdem die Wirkung einige Minuten gedauert hat, gießen wir den Inhalt des Glases in viel kaltes Wasser. Dann fischen wir den Schnitt heraus und bringen ihn in anderes Wasser. Auf den Objektträger kommt ein Tropfen Wasser, in dem der Schnitt nun mit Nadeln in der Längsrichtung leicht zerzupft werden kann.

Wir legen ein Deckglas auf und finden dann bei der Beobachtung dieselben Elemente, die uns schon bekannt sind, hier aber einzeln liegen. An den Tracheiden können wir jetzt die Tüpfel sehr gut beobachten. An der Form der Tracheiden fällt uns auf, daß einige abgerundete, die andere zugespitzte Enden besitzen. Die Tracheiden mit abgerundeten Enden entstammen dem Frühholz, die anderen dem Spätholz. Der Holzstoff ist

ausgezogen worden. Die Wände müssen also Zellulosereaktion zeigen. Wir fügen einen Tropfen Chlorzinkjodlösung hinzu und sehen, wie sie sich violett färben.

29. Epithelzellen vom Säugetierdarm.

Das Epithelgewebe hat die allereinfachste Anordnung der Zellen bei den Tieren. Verschiedene einfache Tierformen besitzen überhaupt nur ein solches Gewebe und bei den Embryonen der höheren Tiere tritt es zuerst auf.

Die Epithelgewebe sind nur an Oberflächen zu finden, sei es an der Oberfläche des ganzen Körpers oder als Oberfläche der Hohlräume im Innern. Weiter sind die Zellen des Epithelgewebes dicht aneinandergereiht und nur durch eine schwach entwickelte „Kittmasse“ verbunden. Introzellularsubstanz oder Grundsubstanz ist bei ihnen nicht vorhanden.

Es sind aber im übrigen doch verschiedenartige Gewebe. Die Zellen können in einer oder mehreren Schichten angeordnet sein, danach unterscheidet man einschichtige und mehrschichtige Epithelien. Unter den einschichtigen finden sich wieder solche, deren Zellen von hoher, zylindrischer Form sind und Zylinderepithelien genannt werden und solche, die aus niederen, plattenförmigen Zellen bestehen, Plattenepithelien genannt. Nach ihrer physiologischen Aufgabe kann man sie weiter einteilen.

Das Epithel des Darms der Säugetiere, das wir untersuchen wollen, gehört zu den einschichtigen Zylinderepithelien.

Wir verschaffen uns vom Schlachter ein Stück des Darmes vom Schwein oder vom Rind. Natürlich muß der Darm nicht nur ganz frisch sein, er darf auch noch nicht gereinigt worden sein, d. h. die Darmschleimhaut darf noch nicht abgeschabt sein.

Ein kleines Stück (höchstens 0,5 qcm groß) bringen wir auf 12 bis 24 Stunden in den sogenannten Drittelalkohol von Ranvier. Er wird hergestellt, indem man 28 Teile absoluten Alkohol mit 72 Teilen Wasser mischt, oder indem man mischt: Alkohol von 90 % mit Wasser im Verhältnis von 1:2 oder Alkohol von 95 % mit Wasser im Verhältnis von 4:9.

Hat man die Isolationsflüssigkeit eine genügende Zeit wirken lassen, so versucht man zuerst, ob durch kräftiges Schütteln die Epithelien sich bereits lösen. Ist es nicht der Fall, so wird wieder auf dem Objektträger mit Nadeln zerzupft.

Jetzt fügen wir einen Tropfen Glycerin hinzu, falls das Gewebe schon

auf dem Objektträger liegt, oder wir übertragen die aufgefischten Teile in einen Tropfen (mit Drittelalkohol verdünntes) Glycerin und legen das Deckglas auf.

Wir färben, indem wir einen Tropfen **P i k r o k a r m i n** an den Rand des Deckglases bringen. Der Farbstoff färbt die Kerne, aber auch andere Teile können etwas davon aufnehmen. Wir verwenden ihn hier, da er **n i c h t ü b e r f ä r b t**. Die Färbungen sind nicht immer gleich, da Pikrokarmine verschiedene Zusammensetzung hat und aus einer Reihe einzeln wirkender Stoffe besteht. Es ist nicht zu empfehlen, Pikrokarmine selbst herzustellen, sondern den P. Mayerschen Pikrokarmine fertig zu beziehen.

Die Herstellung ist folgende: 1 g Karmin und 0,1 g Magnesia werden mit 20 ccm Wasser gekocht, auf 50 ccm verdünnt, darauf filtriert und mit 3 Tropfen Formol versetzt. Zu einem Teile dieses Magnesiakarmines werden 9 Teile einer Lösung von pikrinsaurem Magnesia gebracht. Pikrinsäurem Magnesia erhält man, wenn man 200 ccm einer 5prozentigen Lösung von Pikrinsäure in Wasser mit 0,25 g kohlen-saurer Magnesia bis zum Kochen erhitzt, absetzen läßt und filtriert.

Unter dem Mikroskop erkennen wir das Epithel als eine Zelle, die sehr hoch und zylinderförmig ist (Fig. 15). Jede besitzt einen Kern, der nicht in der Mitte, sondern näher der Basis sich findet. An dem freien Ende, das nicht so stark abgerundet ist, findet sich eine **K u t i k u l a** von ziemlicher Dicke. Diese weist eine deutliche senkrechte Streifung auf. Manchmal kann diese Streifung verschwinden.

Außer diesen Epithelzellen werden wir vielleicht auch andere finden, etwa von derselben

Größe, die fast bis zum Grunde becherförmig ausgebuchtet sind. Diese Becherzellen sind Drüsen, die Schleim absondern. Sie finden sich zwischen den Zylinderepithelzellen des Darmes.

Durch Umranden unseres Präparates (S. 36) können wir leicht ein Dauerpräparat gewinnen.

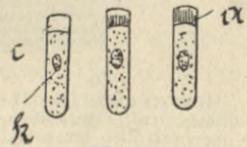


Fig. 15.
Darmepithelien
Säugetierdarm.
k Kern, c Kutikula;
a Protoplasmaausläufer.

30. Quergestreifte Muskeln.

Das Muskelgewebe hat die Aufgabe, Bewegungen hervorzu- bringen, die darin bestehen, entweder das ganze Tier von einem Ort zum anderen zu bringen, oder einzelne Teile am Tier in eine andere Lage zu bringen. Die am höchsten entwickelte Art des Muskelgewebes sind die **q u e r g e s t r e i f t e n M u s k e l n**, die sich hauptsächlich bei Wirbel- tieren und Insekten finden.

Die quergestreifte Muskelzelle oder Muskelfaser (Fig. 16) besteht aus folgenden Teilen: 1. aus einer Zellhaut, der man den Namen Sarkolemma gegeben hat; 2. aus einer Anzahl Zellkernen, deren Zahl bald geringer, bald größer ist, umgeben von spärlichen Resten des unveränderten Protoplasmas; 3. aus der sogenannten kontraktile Substanz.

Wir untersuchen frische Wirbeltiermuskeln, die wir vom Schlachter beziehen.

Zunächst wollen wir das Sarkolemma erkennen. Wir zerzupfen ein Stück des Muskels auf dem Objektträger und fügen einen Tropfen Wasser hinzu. Das Deckglas wird aufgelegt, doch dürfen wir die Schutzleisten nicht vergessen. Nach kürzerer oder längerer Zeit hebt sich das Häutchen so ab, daß wir mehr oder weniger deutlich Zwischenräume zwischen der Haut und der anderen Masse wahrnehmen.

Wir können den Vorgang beschleunigen, was sicher meist erwünscht ist, denn zur Beobachtung des Vorganges gehört sonst eine ziemliche Geduld. Schon nach etwa 5 Minuten ist aber der Erfolg erreicht, wenn man einen Tropfen Ammoniumkarbonatlösung statt des Wassers hinzufügt. Zur Darstellung

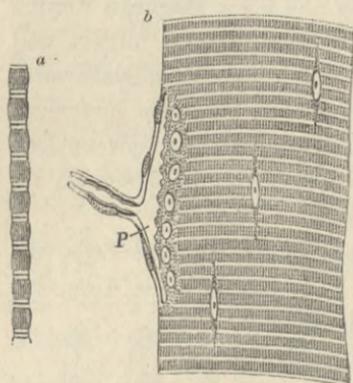


Fig. 16.

Quergestreifte Muskeln.
a quergestreifte Muskelprimitivfibrille;
b quergestreifte Muskelfaser (Muskelprimitivbündel) mit Nervenendigung;
P Nervenendplatte (nach Kühne).

der Lösung wird so viel kohlen saures Ammoniak (oder Hirschhornsalz genannt) kaltem Wasser zugesetzt, als sich darin löst (25 g in 100 ccm).

In einem Uhrglas überschütten wir eine geringe Menge Kaliumchlorat mit der vierfachen Menge Salpetersäure und bringen ein Stück Muskel hinein, das aber ganz von der Flüssigkeit bedeckt werden muß. Nach 30 Minuten bringen wir den Muskel in einen Probierzylinder, der zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist, und schütteln tüchtig. Wenn der Muskel dabei noch nicht zerfällt, legen wir ein kleines Stück davon auf den Objektträger und decken ein Deckglas darüber, das an den vier Ecken Wachsfüße besitzt. Nun klopfen wir mit einer Nadel sanft auf das Deckglas; die Füße geben nach, und durch den Druck wird der Muskel in seine Elemente zerlegt. Vom Deckglasrande lassen wir verdünntes Glycerin zufließen. Wir beobachten, ob wir die Streifung wahrnehmen können. Dann lassen wir einen Tropfen Pikrokarmine hinzutreten, um die Kerne deutlich erkennen zu können. Sie liegen hier sämtlich an dem Sarkolemma.

Einen anderen Muskel legen wir in $\frac{1}{10}$ prozentige Chromsäure. Gewöhnlich wird Chromsäure in starker Verdünnung angewendet; wir halten uns eine 1prozentige Säure vorrätig, um stärkere Verdünnungen daraus leicht gewinnen zu können.

Die Menge der Chromsäure muß die des Muskels bedeutend übersteigen. Nach 24 Stunden schneiden wir den Muskel in zwei Hälften, deren eine wir in Wasser auf dem Objektträger zerzupfen, die andere kommt in die Chromsäure zurück.

Unter dem Mikroskop sehen wir in unserem Zupfpräparat, daß die quergestreiften Muskeln aus sehr feinen, längslaufenden Fasern, den Fibrillen aufgebaut sind.

Die Fibrillen sind wiederum aus Querscheiben aufgebaut, die in Dicke und Lichtbrechung verschieden sind. In nebeneinander liegenden Fasern sind die Elemente aber gleich angeordnet, wodurch das Bild der Querstreifung entsteht.

Die zweite Hälfte des Muskels bleibt noch etwa 14 Tage in der Chromsäurelösung. Dann waschen wir es in viel Wasser aus, das wir oft erneuern. Das Auswaschen muß mindestens 24 Stunden dauern. Es ist vollendet, wenn das Stück die gelbe Chromfarbe möglichst verloren hat. Während der ganzen Behandlung stellt man das Gefäß am besten ins Dunkle.

Aus dem Wasser bringen wir das Stück auf 24 Stunden in 70prozentigen, danach ebenfalls auf 24 Stunden in 90prozentigen Alkohol. Die Menge des Alkohols muß verhältnismäßig groß sein. Auch diese Operationen werden im Dunkeln vorgenommen.

Von diesem gehärteten Objekt stellen wir Querschnitte her. Das Holundermark, das wir beim Schneiden verwenden wollen, legen wir vorher auf einige Zeit in Alkohol, und das Rasiermesser feuchten wir mit Alkohol an. Die Schnitte kommen im Glycerintropfen zur Beobachtung.

In dem Schnitt sehen wir die quergeschnittenen Fibrillen als stark lichtbrechende Punkte, von denen mehrere durch sichtbares Bindegewebe zu Muskelprimivbündeln zusammengefaßt sind. Innerhalb der Bündel können die Fibrillen zu kleinen Gruppen geordnet sein, die man Muskelsäulchen oder Muskelzylinder nennt. Durch diese Anordnung entstehen die mehr oder weniger deutlich abgegrenzten Cohnheimschen Felder. Auch die Kerne sind sichtbar, besser aber in einem anderen Schnitt, den wir mit Hämatoxilinlösung färben.

Weiter wollen wir untersuchen, wie Muskeln in Querscheiben zerlegt werden können. Wir bringen einen Muskel auf mehrere Stunden in 0,5—0,05prozentige Salzsäure. Durch Schütteln oder gelindes Zupfen zer-

fallen die Muskeln dann in Querscheiben. Wir übertragen sie in Glycerin, das mit Wasser verdünnt ist, und dem wir etwas Hämatoxilinlösung zugesetzt haben. Nach einigen Stunden ist die Färbung vollbracht. Wir können den Muskel gleich in diesem Glycerinhämatoxilin zerzupfen. Nach der Färbung übertragen wir in ungefärbtes verdünntes Glycerin.

Vorteilhafter als Wirbeltiermuskeln sind für manche Zwecke Käfermuskeln zu untersuchen. Die Käfer kann man durch Einlegen in Alkohol töten. Wie schon erwähnt, sind die Käfermuskeln den quergestreiften der Wirbeltiere gleich gebaut; zu bedenken ist nur, daß die Flügelmuskeln kein Sarkolemma besitzen.

31. Ganglienzellen.

Das Nervengewebe ist aus Zellen zusammengesetzt, die Nervenzellen oder Ganglienzellen genannt werden. Von jeder Ganglienzelle geht wenigstens ein Ausläufer aus, der sich in eine kürzere oder längere Nervenfaser fortsetzt.

Nach der Zahl der Ausläufer werden die Ganglienzellen in unipolare, bipolare und multipolare Zellen eingeteilt, je nachdem ihr Protoplasma einen, zwei oder mehrere Ausläufer bildet.

Wir wollen Ganglienzellen aus dem Zentralnervensystem der Säugetiere untersuchen. Sie sind durchweg mit mehreren Ausläufern ausgestattet, besitzen manchmal eine ganze Anzahl davon. Unter diesen fällt einer auf, der sich in seinem Bau von den anderen unterscheidet. Er heißt Nervenfortsatz oder Achsenzylinderfortsatz. Die anderen werden Dendriten oder Protoplasmafortsätze genannt.

Die Dendriten sind reich verzweigt und besitzen meist knotenförmige Verdickungen. Der Nervenfortsatz ist glatt und gleichmäßig dick, weiterhin teilt er sich, doch sind dabei noch mancherlei Unterschiede festgestellt worden.

Um Rückenmarkstücke von einem Säugetier (Schwein, Rind) mazerieren zu können, bringen wir nicht zu große Stücke auf 1—2 Wochen in den Ranvierschen Drittelalkohol, oder auf 2 Wochen in 0,1prozentige Lösung von Kaliumbichromat, oder wir verdünnen unsere 1prozentige Chromsäurelösung mit der 20fachen Menge Wasser und benutzen diese Verdünnung zur Isolation, was 3—7 Tage erfordern wird.

Durch Schütteln lassen sich die Ganglienzellen trennen. Man kann auch das Stück auf dem Objektträger zerdrücken, da es sehr weich geworden ist, dann kann man das Einschlußmittel hinzufügen.

Wir verdünnen etwas Glycerin mit Eosinlösung und schließen zur Beobachtung die Ganglienzellen in einen Tropfen davon ein. Die Achsenzylinder und Protoplasmafortsätze sind an den so gewonnenen Präparaten sehr gut zu sehen.

Man kann vorteilhaft vor dem Einlegen in die Flüssigkeit die weiße Substanz entfernen (indem man sie z. B. mit einer Schere wegschneidet), so daß nur die graue Nervensubstanz zur Untersuchung kommt.

32. Herstellung eines Präparates aus den Bakterien des Zahnschleims.

Die bei der Herstellung von Bakterienpräparaten verwendeten Deckgläser müssen besonders gut gereinigt sein. Oft genügt es, wenn wir die wie bisher gereinigten Deckgläser in starken Alkohol bringen, sie trocken reiben und dann durch die Flamme ziehen. Dazu fassen wir ein Deckglas mit der Pinzette und führen es senkrecht und nicht zu schnell durch die große Flamme (Spiritusflamme oder Bunsenbrenner). Zum Halten der Deckgläser verwendet man vorteilhaft eine Pinzette, die sich auf Druck öffnet (Cornetsche Pinzette, Fig. 17). Diese besitzt an einer Seite einen Knopf

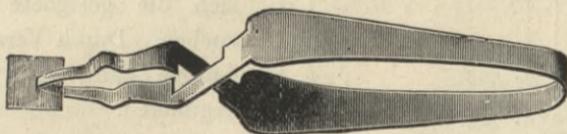


Fig. 17. Cornetsche Pinzette.

als Marke; man gewöhne sich daran, diese Seite stets als oben anzusehen und die Deckgläser dementsprechend zu fassen, falls deren Ober- und Unterseite zu unterscheiden ist. Ein Tropfen Wasser darf sich auf dem Deckglas nicht verziehen. Genügt diese Reinigung nicht, so bringen wir das Deckglas auf einige Stunden in eine starke Säure. Nach dem Abspülen in reinem Wasser gießen wir eine Lösung von Kaliumhydroxyd in Alkohol darüber und erwärmen es mit dieser Lösung vorsichtig ein wenig. Nach einer halben Stunde waschen wir wieder mit reinem Wasser. Dann spülen wir mit Alkohol, dem einige Tropfen Essigsäure zugesetzt sind. Durch neutralen Alkohol überführen wir es dann in Äther. Aus diesem holen wir es vor der Benutzung und ziehen es einmal durch die Flamme.

Ein gut gereinigtes Deckglas bedecken wir mit einem Tropfen Wasser und bringen ein wenig von dem weißen Belag unserer Zähne hinein, verteilen gut und lassen eintrocknen. Das kann bei Zimmertemperatur

geschehen; man muß nur dafür sorgen, daß kein Staub hinzutreten kann. Auf einfache Weise zu verhüten ist dieses, wenn man ein Glas umgekehrt darüber stülpt. Wollen wir bei höherer Temperatur eintrocknen lassen, so benutzen wir mit Vorteil ein einfaches Wärmemischchen nach Born, das wir selbst herstellen können oder anfertigen lassen.

Aus Eisenblech wird die Fig. 18 ausgeschnitten. Die Länge der Beine *CD* usw. ist so lang zu nehmen, als die Höhe der Spirituslampe oder des Bunsenbrenners beträgt. Die Strecke *CB* muß etwa die halbe Flammhöhe ausmachen, die zum Erwärmen dient. *BT* ist so lang, oder etwas länger, wie ein Objektträger. In *CF*, *GK*, *LO*, *PS* wird rechtwinklig

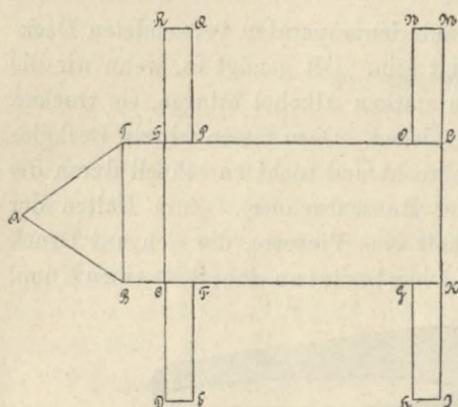


Fig. 18. Bornsches Wärmemischchen.
Erklärungen im Text.

nach unten umgebogen. Die Füße können unten noch etwas rund gebogen werden. Bei *CS* wird rechtwinklig nach oben, bei *BT* dann wieder in die Richtung von *KC* umgebogen. Stellt man die Flamme nun unter *ABT*, so werden die Teile des Tisches verschieden erwärmt, man kann sich die geeignete Stelle aufsuchen. Durch Verschieben der Lampe kann man die Wärme regulieren.

An einer auf etwa 40 Grad erwärmten Stelle des Wärmemischchens lassen wir unser Deckglaspräparat trocknen, fassen es mit der Pinzette und bewegen es dreimal langsam durch die Flamme. Das Deckglas liegt dabei wagerecht, die mit dem Objekt bedeckte Seite nach oben. Die Zeit, die für jede Bewegung erforderlich ist, findet man, wenn man den Finger so langsam durch die Flamme zieht, daß man dabei noch keinen Schmerz empfindet. Jetzt sind unsere Bakterien fixiert. Sie sterben dabei ab und haften fester am Glas als vorher.

Zum Färben stellen wir uns folgende Farblösung her. Säurefuchsin wird bis zur Sättigung in 95prozentigem Alkohol gelöst. Die letzten Teile lösen sich langsam, man muß nach Tagen versuchen, ob sich nicht noch mehr Farbstoff auflöst. Diese alkoholische Lösung wird aufbewahrt. Die zum Färben der Bakterien brauchbare Lösung müssen wir daraus jedesmal frisch herstellen, indem wir einen Teil der gesättigten Lösung mit 10 Teilen Wasser vermischen.

Das Deckglas halten wir mit der Pinzette und bringen dann mit dem

Glasstab so viel Farblösung darauf, als möglich ist. Nach 5 Minuten waschen wir mit Wasser ab. Dabei lassen wir aus der Leitung das Wasser in feinem Strahl darauf fließen. Auf der freien Seite wischen wir das Deckglas mit Fließpapier ab und lassen danach trocknen.

Auf einen Objektträger bringen wir einen Tropfen Wasser und legen das Deckglas darauf, die Präparatseite nach unten. Bei der Beobachtung wird unser bisher benutztes Mikroskop nicht ausreichen. Wir machen uns daher zunächst mit den Einrichtungen vertraut, die die Benutzung stärkerer Vergrößerungen gestatten.

33. Beleuchtungsapparat. Immersion.

Wir haben gleich am Anfang unserer Übungen beobachten können, daß die Beleuchtung des Gesichtsfeldes um so schwächer wird, je stärker die angewandte Vergrößerung ist. Bei sehr starken Vergrößerungen reicht der von dem Hohlspiegel auf das Objekt geworfene Lichtkegel nicht aus zur Beleuchtung, darum verwendet man den von Abbe erfundenen Beleuchtungsapparat.

Zwei oder drei Linsen sind zu einem sogenannten Kondensator zusammengestellt (Fig. 19), die obere Linse ist plankonvex, die flache Seite ist nach oben gerichtet. Dabei umfaßt sie mehr als eine Halbkugel.

Der Brennpunkt des Systems soll in der Ebene des Objektes liegen. Um ihn beliebig verlegen zu können, ist der ganze Apparat durch eine seitliche Schraube aufwärts und abwärts bewegbar. Unter dem Kondensator befindet



Fig. 19. Dreilinsiger Kondensator.

sich die Irisblende, darunter gewöhnlich ein Ring, der matte oder gefärbte Scheibchen aufnehmen kann, die bei der Anwendung künstlichen Lichtes erforderlich sind. (So würde man bei Petroleumlicht z. B. wegen der vielen gelben Strahlen ein blaues Glas verwenden müssen.) Zur Beleuchtung verwenden wir in der Regel den Planspiegel.

Bei größeren Beleuchtungsapparaten kann man die Irisblende durch ein Triebwerk bewegen, um schiefe Beleuchtung zu erhalten (vgl. Fig. 3).

Der Beleuchtungsapparat kann entfernt werden, so daß nur die Irisblende zurückbleibt, oder es kann statt desselben eine Zylinderblende mit verschiedenen Blendeneinsätzen dafür angebracht werden.

Voll ausgenutzt wird der Kondensator erst, wenn man zwischen ihn und den Objektträger eine Schicht Immersionsöl bringt. Bei unseren

Untersuchungen können wir aber darauf verzichten, zumal dann die Handhabung bedeutend einfacher und bequemer wird.

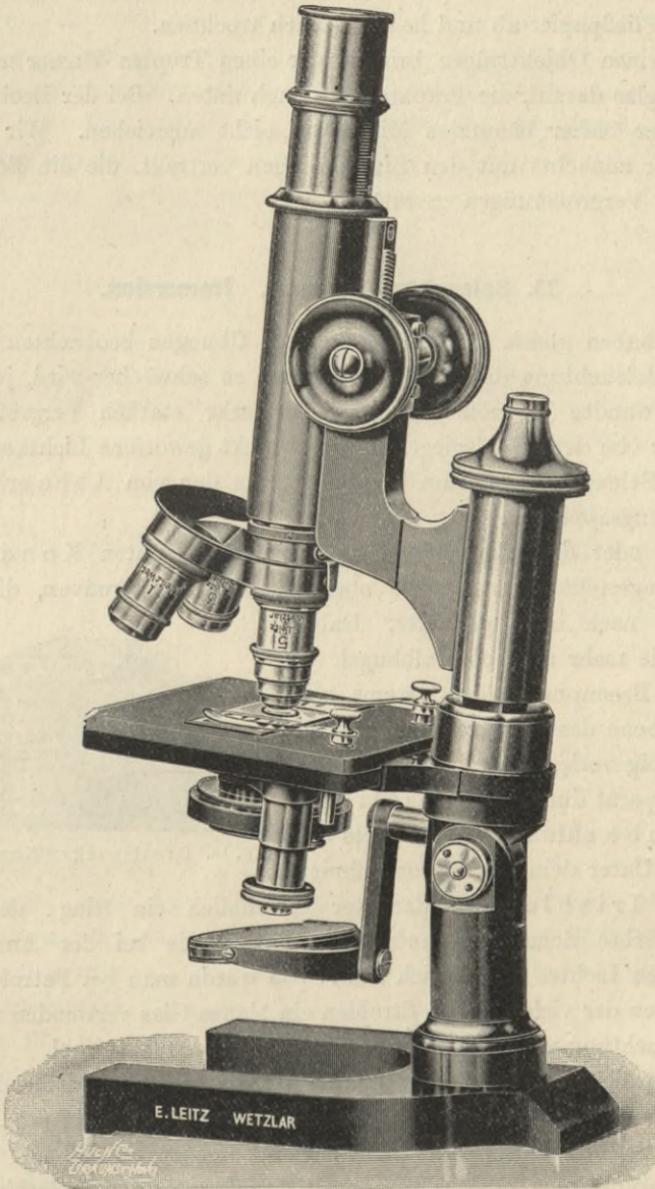


Fig. 20. Stativ II von Leitz.

Auch Immersionssysteme sind für uns nicht unbedingt erforderlich. Bei ihrer Benützung muß zwischen das Deckglas und die

Frontlinse des Systems ein Tröpfchen Immersionsöl gebracht werden (oder Wasser bei einer Wasserimmersion). Man bringt ein kleines Tröpfchen Öl (das der Verfertiger des Mikroskops geliefert haben muß) auf das Deckglas und senkt die Linse vorsichtig, bis sie ihn berührt. In dem Öl dürfen keine Luftbläschen vorhanden sein, weshalb man am besten vorher mit einer Lupe prüft. Aber auch durch die Linse könnte Luft hinzukommen. Um das zu verhindern, kann vorher vorsichtig ein kleines Tröpfchen Öl an die Linse gebracht werden. Sehr vorsichtig muß die Einstellung erfolgen. Durch Berührung von Linse und Deckglas kann sehr leicht die Fassung der Linse verändert oder die Linse herausgedrückt werden, wobei man noch Glück hat, wenn die Linse nicht beschädigt wird. Es empfiehlt sich hier ganz besonders, zuerst das s c h w ä c h s t e Okular zur Einstellung des Objektes zu verwenden. —

Größere Mikroskope besitzen gewöhnlich ein Gelenk zum Umlegen (Fig. 20). Das Beobachten wird erleichtert, weil man dann das Auge nicht senkrecht über den Apparat zu bringen braucht. Der Tubus wird zudem nicht durch Verschieben in einer Röhre grob eingestellt, sondern durch Zahn und Trieb. Man darf den Tubus dann nicht ganz herausdrehen, um das Objektiv anzuschrauben. Das Einstellen muß vorsichtig geschehen, da bei dem Anfänger hierbei die Gläser noch eher in Gefahr kommen als bei der Verschiebung des Tubus in der Röhre.

Bequem ist es, wenn das Mikroskop einen Revolver besitzt; denn die Objektive sind von dem Fabrikanten dann so eingerichtet, daß die grobe Einstellung eines zweiten Objektivs vor sich geht, ohne daß der Tubus bewegt wird.

Man muß sich überzeugen, wie der Fabrikant die Tubuslänge gerechnet hat. Manche haben die Höhe des Revolvers schon mit in Rechnung gezogen, bei anderen muß man seine Höhe von der Tubuslänge abziehen und z. B. den Tubusauszug statt auf 170 auf 152 stellen; denn als Tubuslänge gilt der Abstand von der Stelle des Objektes an, an der das Gewinde beginnt.

34. Untersuchung des Bakterienpräparates aus dem Zahnschleim.

Das mit Fuchsinlösung gefärbte Präparat, das in einen Wassertropfen eingeschlossen ist, bringen wir bei starker Vergrößerung unter das Mikroskop und stellen das Licht stark ein, wobei wir das Okular entfernen können. Nun schließen wir die Blende vollständig; doch müssen wir darauf achten, zum Schluß nicht zu d r ü c k e n, da die Blätter der Blende dabei leiden würden. Langsam öffnen wir die Blende, bis wir die Stelle finden, bei der wir das Bild am deutlichsten sehen (Fig. 21).

Die Bakterien haben sich rot gefärbt. Bei geeigneter Vergrößerung sind bei einzelnen Membran und Zytoplasma zu erkennen. Gewöhnlich ist es gelungen, in dem Präparat Vertreter der verschiedensten Formen der Bakterien zu erhalten, da in der Mundhöhle an hundert verschiedene Arten vorkommen sollen, die teilweise noch wenig bekannt sind. Wir erkennen lange Stäbchen und Fäden, die Bazillen und *Leptothrix*, lange, starre, korkzieherartig gewundene Zellen, die *Spirillen*, und verwandte, aber biegsame *Spirochäten*, teilweise mit Wimpern (Zilien) an den Enden. Dazwischen finden sich elliptische Gebilde, die Bakte-

rien im engeren Sinn, und kugelförmige *Kokken*, entweder in kugelförmigen Haufen, *Mikrokokken*, oder paketartig vereint mit vorherrschender Vierzahl, *Sarcina*.

Ein anderes Präparat (oder das erste, das trocken geworden ist) bringen wir in Kanadabalsam. Falls wir eine Ölimmersion benutzen, müssen wir darauf achten, daß kein Balsam unter dem Deckglas vordringt, da er sich im Öl löst, wodurch Deckglas und Linse verunreinigt werden könnten.

In dem Präparat scheinen die Stäbchen kürzer geworden zu sein. Wir drehen an der Blende, um wiederum die günstigste Stellung zu erlangen. Die Umrandung der Zellen erscheint nicht mehr so glatt wie vorher. Man sieht bei einem im Kanadabalsam liegenden Präparat meist weniger als bei dem ersten, was dann von Vorteil ist, wenn Bakterien in einer Umgebung nachgewiesen werden sollen, die an der Färbung gar nicht oder weniger stark teilgenommen hat.

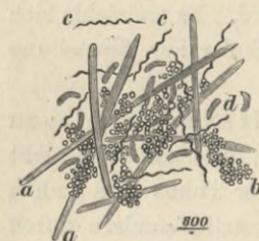


Fig. 21.

Spaltpilze aus dem Zahnschleim.

a *Leptothrix buccalis*; *b* *Micrococcus*; *c* *Spirillum dentium*; *d* *Kommabazillus* der Mundschleimhaut.

Wir stellen ein anderes Präparat her, bei dem wir das Deckglas mit der Farblösung 10 Sekunden dadurch erwärmen, daß wir es hoch über die Flammen halten. Abspülen usw. wie beim ersten Präparat. Die Beobachtung erfolgt im Wassertropfen. Das Zytoplasma hat sich rot gefärbt. Dunklere Stellen in den Zellen sind Sporenanlagen, helle sind Fetttropfchen.

Nachdem wir die Bakterien in fixiertem und gefärbtem Zustande kennen gelernt haben, wollen wir versuchen, sie in frischem Zustande zu untersuchen. In einem Wassertropfen, den wir auf den Objektträger gebracht haben, übertragen wir ein wenig von dem Zahnschleim und legen ein Deckglas darüber. Wenn wir die Bakterien wieder aufgefunden haben, fügen wir am Deckglasrande einen Tropfen *Jodjodkaliumlösung* hinzu. Die Bazillen färben sich blauviolett, die *Leptothrix* aber gelb.

Deutlich zeigt sich eine Zusammensetzung der Fäden aus kürzeren Stücken. Die mit Wimpern versehenen Spirillen bewegen sich mehr oder weniger lebhaft.

35. Der Heubazillus.

Wir wollen die Entwicklungsgeschichte des Heubazillus, *Bacillus subtilis*, kennen lernen und übergießen zu dem Zwecke zuerst ein wenig trockenes Heu mit Brunnenwasser, so daß das Heu eben davon bedeckt wird. Dieser Aufguß muß etwa eineinhalb Tage bei einer Temperatur von 45° stehen bleiben. Bei 15° würden über 8 Tage, bei 14° über 12 Tage erforderlich sein.

Einen Wärme- oder Brutschrank, der auf beliebige Temperatur erwärmt werden kann, werden wir nicht zur Verfügung haben, können auch darauf verzichten, da es uns nicht auf Bestimmung der Vorgänge bei bestimmter Temperatur ankommt. Wir helfen uns auf folgende Weise. Ein Gefäß mit nicht zu dickem Boden, sehr geeignet ist z. B. eine leere Konservenbüchse, wird so weit mit Wasser gefüllt, daß es fast bis an den Rand steigt, wenn wir unser Glas mit dem Heu-aufguß hineinhängen. Vorteilhaft ist es, wenn man ein Becherglas in einen Blechring hängen kann, der dann gleichzeitig zum Verschließen des Gefäßes dient. Das Wasser in dem „Wasserbad“ wird auf 50° erhitzt, dann hängen wir unseren Heu-aufguß hinein und decken ihn mit einer Glasscheibe zu. Unter dem Wasserbad wird eine kleine Flamme angebracht, die das Wasser auf seiner Temperatur erhält. Man kann dazu z. B. eine Spirituslampe benutzen, deren Flamme man klein schraubt. Durch Probieren findet man die richtige Größe der Flamme und die erforderliche Entfernung zwischen Topf und Flamme. Sehr zu empfehlen sind die sogenannten Nürnberger Nachtlichte, zu denen die Fabrik (G. A. Glafey, Nürnberg) einen Nachtluchtgetränkwärmer liefert. Ein Nachtlucht brennt etwa 16 Stunden mit heller Flamme und gibt genügend Wärme. Natürlich wird man manchmal die Temperatur untersuchen, um gegebenenfalls mit einer größeren Flamme die Temperatur wieder auf die gewünschte Höhe zu bringen.

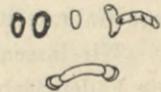


Fig. 22.
Heubazillus.

Nach dieser Zeit gießen wir den Aufguß ab (ohne zu filtrieren) und verdünnen noch mit etwas Wasser. In einem Kolben (Kochflasche) kochen wir ihn 1 Stunde, doch so, daß wenig Dampf entwickelt wird. Dann schließen wir die Flasche mit einem Wattedropfen, den wir schnell durch die Flamme gezogen haben, und stellen den Aufguß wieder bei einer Temperatur von 45° auf. Auch andere Temperaturen, soweit sie nicht unter 9° liegen,

genügen, doch ist dann um so längere Zeit erforderlich, z. B. bei 12° über 14 Tage.

Nach einigen Tagen entwickelt sich auf dem Aufguß eine *K a h m h a u t* von grauer Farbe. Die Sporen des Heubazillus haben die einstündige Siedehitze ertragen, während alle sonst vorhandenen Bakterien zugrunde gegangen sind.

Zum Übertragen eines Teiles der Kahmhaut verwenden wir eine *sterilisierte Platinnadel*. Wir können sie herstellen, indem wir ein Stück Platindraht mit einem Ende in eine Glasröhre stecken und diese Stelle erhitzen. Der Draht wird dadurch festgeschmolzen. Das vordere Ende des Drahtes können wir zu einer Öse biegen. Vor dem Gebrauch wird die Platinnadel erhitzt und nach dem Erkalten verwendet, ohne daß sie vorher mit einem anderen Körper in Berührung gekommen ist.

Mit der Platinnadel bringen wir ein wenig von der Kahmhaut auf den Objektträger, legen ein Deckglas auf und sehen dann bei starker Vergrößerung, daß die Kahmhaut aus langen, parallel laufenden Fäden besteht. Die Fäden sind gegliedert, da sie aus Stäbchen bestehen. Durch eine unsichtbare Gallerte werden alle Stäbchen und Fäden zusammengehalten.

Wir lassen einen Tropfen *Chlorzinkjodlösung* hinzutreten. Die Fäden färben sich gelb und sind nun noch deutlicher zu erkennen.

Nun lassen wir etwas Kahmhaut auf einem gut gereinigten Deckglas eintrocknen, fixieren und färben mit *Fuchsin*. Nach dem Trocknen können wir in einen Tropfen Kanadabalsam einschließen.

Um die Teilung der Stäbchen verfolgen zu können, befestigen wir unseren Zeichenapparat am Mikroskop und zeichnen eine geeignete Stelle in einem frischen Präparat auf. Damit die Flüssigkeit unter dem Deckglas nicht eintrocknet, fügen wir von Zeit zu Zeit einen kleinen Tropfen des Aufgusses hinzu. Alle halbe bis anderthalb Stunden teilen sich die Stäbe. Sie werden länger, ohne dabei an Dicke abzunehmen; haben sie eine bestimmte Länge erreicht, so tritt eine dunkle Scheidewand auf. Da alle Fäden in die Länge wachsen, müssen sie sich bei eintretenden Hindernissen krümmen, und weil alle parallel nebeneinander liegen, faltet sich die Haut, wie wir in unserem Gefäß beobachten können. Durch Wärme wird das Wachstum begünstigt.

Die weitere Entwicklung wollen wir im „*hängenden Tropfen*“ vor sich gehen lassen. Die erforderliche „*feuchte Kammer*“ kann man von einer Handlung mikroskopischer Gerätschaften beziehen; wir können sie uns aber auch auf einfache Weise selbst herstellen.

Aus nicht zu dicker Pappe wird ein Stück in der Größe eines Objektträgers ausgeschnitten (es kann aber kürzer sein); dann wird in der Mitte

eine Öffnung angebracht, die etwas kleiner ist als das zur Verwendung kommende Deckglas. Dieser Papprahmen wird ins Wasser geworfen. Nachdem er sich voll Wasser gesogen hat, legen wir ihn glatt auf das Objektglas.

Auf einem gut gereinigten und sterilisierten Deckglas breiten wir in der Mitte einen Tropfen flach aus, bringen ein wenig Kahmhaut mit der sterilisierten Platinnadel hinein und kehren das Deckglas schnell um, so daß der Tropfen jetzt nach unten hängt. So legen wir das Deckglas auf die Öffnung des Rahmens. Damit der Tropfen nicht verdunsten kann, müssen wir den Rahmen stets feucht erhalten.

Da die Entwicklung etwa 6—8 Stunden erfordert, bringen wir unser Präparat so lange in die große feuchte Kammer, die wir früher schon angewendet haben (S. 19).

Nachdem die Nährstoffe des Tropfens verbraucht sind, hört die vegetative Vermehrung auf, und die Sporenbildung beginnt.

Betrachten wir das Präparat nach 6—8 Stunden, dann finden wir einzelne Fäden, in denen sich Stoffe an einer Stelle angesammelt haben, die stärker das Licht brechen; es sind in der Bildung begriffene Sporen. Diese Ansammlung wird immer dicker; der Faden entleert sich, und bald ist die Spore vollendet.

Um diesen Zustand festzuhalten, saugen wir mit Fließpapier das Wasser schnell, aber vorsichtig ab, lassen trocknen, fixieren, färben warm 10 Sekunden mit Fuchsinlösung und betten nach dem Trocknen in Kanadabalsam ein. Um keine Luft einzuschließen, können wir vorher mit Xylol abspülen.

In dem Präparat fanden sich auch schon Sporen, die sich jetzt stark mehren. Nach 12—18 Stunden ist die Sporenbildung vollendet; die Sporen sind auf den Grund des Tropfens gesunken.

Um diesen Zustand aufzubewahren, verfahren wir wie vorhin, fixieren aber, indem wir sechs mal durch die Flamme ziehen und dann 60 Sekunden warm färben.

Von den Sporen bringen wir einen Teil mit der sterilisierten Platinöse in einen Tropfen der Nährlösung (d. h. in einen Tropfen des Aufgusses, in dem aber keine Kahmhaut vorhanden sein darf) und beobachten in der feuchten Kammer. Nach einigen Stunden bricht aus der Längsseite der Spore ein Keimling hervor; er wird länger und bildet bald ein neues Stäbchen, dessen hinteres Ende noch in der Sporenhaut steckt. Nach 12 Stunden etwa tritt die erste Teilung ein.

Wieder fertigen wir ein Dauerpräparat, bei dem wir 60 Sekunden warm färben.

Die ausgekeimten Stäbchen setzen sich in Bewegung, teilen sich, so daß der Tropfen bald erfüllt ist von den sich wackelnd mit ihren Geißeln durch das Gesichtsfeld bewegenden Schwärmern. Diesem Schwärmstadium folgt die Bildung der Kahlhaut.

Färben der Geißeln. Um schwärmende Bakterien zu erhalten, können wir das Sporenmateriale auch einige Minuten kochen, dann entwickeln sie sich schneller. Besser ist es aber, wenn wir warten und den Augenblick benutzen, wenn nach etwa 20—24 Stunden viele Keimstäbchen mit dicken Geißeln entstanden sind.

Wir reinigen einige Deckgläser sehr gut, bringen auf eines einen Tropfen Brunnenwasser und darein eine Spur unseres Bakterienmaterials. Dann tauchen wir die sterilisierte Platinnadel flach in diesen Tropfen, so daß ein wenig Flüssigkeit daran hängen bleibt, und streichen damit schnell und in einem Strich über ein Deckglas, das wir mit der Pinzette halten. Dieses Deckglas klemmen wir mit zwei gegenüberliegenden Ecken zwischen zwei Finger und ziehen es dreimal durch die Flamme. (Wir benutzen nicht die Pinzette, da nicht zu stark erhitzt werden darf.)

Früher haben wir uns folgende Beize bereitet, die mindestens einen Tag alt sein muß.

Unter Erwärmen lösen wir 4 g Tannin in 16 ccm Wasser. Dazu fügen wir 10 ccm einer kalt gesättigten Eisensulfatlösung (6 g Eisenvitriol lösen sich in 10 ccm kaltem Wasser).

Von dieser Lösung filtrieren wir etwas auf das Deckglas, so daß es von einem möglichst großen Tropfen bedeckt wird. Die Beize lassen wir 5 Minuten kalt einwirken. Dann spülen wir kräftig mit Wasser ab und saugen das Waschwasser mit Fließpapier vom Rande her ab. Darauf fügen wir gleich, ohne daß das Deckglas vorher trocknet, unsere Farblösung hinzu. Wir verwenden wieder Fuchsinlösung in derselben Weise wie bisher.

Haltbarer ist eine andere Farblösung. 10 ccm Wasser, 0,5 g Karbolsäure und 1 ccm unserer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung werden gemischt (Karbolfuchsinlösung oder Zielsche Lösung).

Ein großer Tropfen Farblösung wird auf dem Deckglas erhitzt, so daß wohl Dampf entwickelt wird, aber die Flüssigkeit nicht zum Kochen kommt. Wir neigen das Deckglas dabei fortwährend, um die Flüssigkeit in Bewegung zu halten. Danach lassen wir noch einige Minuten einwirken.

Nach tüchtigem Abspülen und Absaugen des Wassers vom Rande her trocknen wir, indem wir das Glas mit den Fingern hoch über die Spiritusflamme halten. Auf das abgekühlte Glas kommt ein Tropfen Xylol, dann wird in einen Tropfen Xylolbalsam übertragen.

Die Geißeln sind gefärbt. Sie erscheinen etwas wellig gekrümmt.

36. Bakterienreinkulturen.

1. Sterilisieren von Glasgefäßen. Die zur Verwendung kommenden Flaschen, Reagenzgläser, Objektträger müssen sterilisiert werden. Wir bringen sie deshalb an drei aufeinanderfolgenden Tagen in den oberen Teil eines geschlossenen Kochtopfes (indem wir sie z. B. in einem Netz aufhängen), in dessen unterem Teil Wasser zum Kochen gebracht wurde. In dem Wasserdampf bleiben sie jedesmal 20 Minuten. Die Reagenzgläser werden mit einem Wattebausch verschlossen, der vorher schnell durch die Flamme gezogen wird. Die Objektträger, Uhrgläser usw. bringen wir in eine ähnliche Vorrichtung wie unsere große feuchte Kammer. Nun füllen wir den Teller mit Kupfersulfatlösung und spülen auch die Glocke mit dieser Lösung aus.

Statt im Wasserdampf zu sterilisieren, können wir unsere Gläser auch auf 1—2 Tage in den Bratofen eines Küchenherdes stellen. Die Gläser können wir dabei gleich mit einem Wattebausch verschließen.

2. Sterilisieren von Möhrenscheiben. Eine dicke Möhre wird mit Sodawasser abgebürstet, darauf tüchtig abgespült, geschält, wieder tüchtig gewaschen und in 0,5—1,0 cm dicke Scheiben geschnitten. Diese Scheiben werden in einem vorher sterilisierten Glase an 3 Tagen je 20 Minuten im Dampfstrom sterilisiert.

3. Nährlösung. Wir bringen 1 g Liebig's Fleischextrakt in 100 ccm Wasser, schütteln tüchtig um und fügen 1 g Rohrzucker und 1 g Pepton (Pepton von Friedrich Witte in Rostock in Mecklenburg) hinzu. Nachdem die Flasche mit einem Wattebausch geschlossen ist, sterilisieren wir an 3 Tagen auf je 20 Minuten im Dampfstrom.

4. Nähragar. Wir lösen 2 g Liebig's Fleischextrakt, 3 g Wittes Pepton und $\frac{1}{2}$ g Kochsalz in 100 ccm Wasser auf. Diese Lösung untersuchen wir mit Lackmuspapier und fügen, falls es sich färbt, so lange Natriumkarbonatlösung hinzu, bis die Färbung des Papiers unterbleibt.

Weiter werden 4 g Agar abgewaschen und in 150 ccm Wasser zum Aufquellen gebracht. Nach 3 Stunden fügen wir die erste neutralisierte Lösung hinzu. Dann wird die ganze Mischung im Wasserbade erhitzt, wobei sich das Agar auflöst. Wir prüfen nochmals mit Lackmuspapier und neutralisieren mit Natriumkarbonatlösung, falls es nötig ist. Die Öffnung der Flasche wird mit Watte verschlossen.

Wenn wir das Nähragar nicht gleich zur Herstellung der Agarröhrchen verwenden wollen, so müssen wir es durch 3maliges Erhitzen auf 100° sterilisieren.

5. **Agarröhrchen.** Wir sterilisieren mehrere Reagenzgläser. Unser Nähragar lösen wir durch Erwärmen im Wasserbade auf. Den Wattebausch ziehen wir ab und legen ihn an eine reine Stelle. Die Öffnung der Flasche ziehen wir drehend durch die Flamme, damit alle Lebewesen abgetötet werden, die sich hier angesetzt haben könnten. Nun öffnen wir ein Reagenzglas, behalten den Wattebausch aber in der Hand. Nachdem wir auch die Öffnung des Reagenzglases durch die Flamme gezogen haben, gießen wir von unserem Nähragar hinein, bis es etwa 10 cm hoch steht. Dann ziehen wir den Baumwollbausch durch die Flamme und schließen das Glas.

Nachdem wir so einige Reagenzgläser gefüllt haben, gießen wir in andere das Agar nur 4 cm hoch. Die gefüllten Gläser werden an 3 Tagen 20 Minuten im Dampfstrom erhitzt. Am dritten Tage stellen wir die 10 cm hoch mit Agar gefüllten Gläser aufrecht, die nur 4 cm hoch gefüllten sehr schräg auf, so daß wir wagerechte und schräge Agaroberflächen erhalten.

6. **Gewinnung von Bakterien auf einer Möhre.** Wir spülen eine dicke Möhre mit Wasser gut ab, ziehen ein Küchenmesser langsam durch die Flamme und schneiden die Möhre der Länge nach durch. Jede Hälfte wird darauf in etwa 5 cm lange Stücke geschnitten. Diese Stücke werden einzeln mit dem Messer aufgespießt und 2 Minuten in siedendes Wasser gehalten, damit alle Lebewesen mit Ausnahme der Bakteriensporen getötet werden. Diese Stücke kommen in einem sterilisierten Gefäß (Uhrglas) in die große feuchte Kammer, die wir mit Kupfersulfatlösung beschickt haben (siehe unter 1).

Nach einigen Tagen haben sich auf den Möhrenscheiben Gallertmassen gebildet. Es sind Kolonien von Bakterien. Beim Vergleichen finden wir, daß sie ein verschiedenartiges Aussehen haben.

7. **Impfender Möhrenscheiben.** Von einer kleinen Kolonie nehmen wir mit der geglühten und wieder erkalteten Platinnadel eine Spur und bringen sie auf eine sterilisierte Möhrenscheibe. Die Möhrenscheibe liegt in einem sterilisierten Uhrglas, das wir mit einem gleichen bedecken können. Wir müssen schnell vorgehen und dafür sorgen, daß keine Sporen aus der Luft auf die Möhrenscheibe fallen können. Die geimpften Scheiben kommen in die feuchte Kammer.

Nach 2—3 Wochen bringen wir eine Spur der gebildeten Kolonie auf einen Objektträger, legen ein Deckglas auf und untersuchen, ob Sporen vorhanden sind. Falls dieses der Fall ist, gehen wir zur Isolierung über.

8. **Isolierung der Bakterien.** Damit bei den folgenden Arbeiten keine fremden Sporen aus der Luft zwischen unsere Bakterien fallen können, hängen wir einen großen Glastrichter mit der großen Öff-

nung nach unten auf, den wir vorher mit Kupfersulfatlösung ausgespült haben. Die kleine Öffnung verschließen wir mit einem Wattepfropfen. Unter dem Glastrichter nehmen wir die Arbeiten vor.

Auf einen sterilisierten Objektträger bringen wir 4 einzelne Tropfen der Nährlösung. Mit der sterilisierten Platinnadel bringen wir eine Spur des Sporenmateri als in den ersten Tropfen und mischen sorgfältig. Nachdem wir die Nadel geglüht haben, bringen wir eine Spur von Tropfen eins in den zweiten Tropfen, und so weiter verfahren erhalten wir immer größere Verdünnungen. Die Nadel muß jedesmal geglüht werden, um noch daran haftende Sporen zu vernichten.

9. Strich- und Stichkulturen (Fig. 23). Der Rand der Öffnung eines mit Nähragar mit wagerechter Oberfläche gefüllten Reagenzglases wird durch die Flamme gezogen. Dann wird der Wattebausch abgenommen. Die Platinnadel wird geglüht und auch der Griff muß durch die Flamme gezogen werden. Darauf wird die Nadel in die Verdünnung 4 auf dem Objektträger getaucht und nun in die Agarfläche gestochen, bis sie fast den Boden erreicht. Das Glas wird mit dem sterilisierten Wattepfropf verschlossen (Stichkultur).

Der Rand eines Agarröhrchens mit schräger Oberfläche wird abgeglüht, dann wird mit der sterilisierten, in die Verdünnung 4 getauchten Nadel lang über die Oberfläche gestrichen (Strichkultur).

Die Beobachtung der Kulturen erstreckt sich auf das Wachstum, die Wirkung auf den Nährboden, die Farbe und Form der Kolonien, Glanz, innere Struktur.

Falls wir noch verschiedene Arten vor uns haben, müssen wir die Verdünnung wiederholen.

37. Das Mikrotom.

Das Schneiden der Objekte mit dem Rasiermesser gelingt nicht bei allen Objekten gleich gut; die Geschicklichkeit des Schneidens ist bei den einzelnen sehr verschieden. Um das Schneiden von der geringeren oder

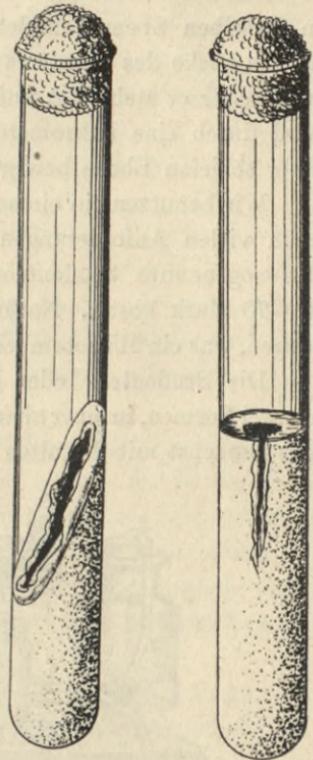


Fig. 23.
Strich- und Stichkultur.

größeren Geschicklichkeit unabhängig zu machen und um Schnitte von bestimmter Dicke zu erhalten, endlich um Schnitte von so geringer Dicke zu erhalten, wie sie mit dem Rasiermesser angefertigt werden können, hat man Apparate für das Schneiden hergestellt, die man Mikrotome nennt.

Das wesentliche der Mikrotome besteht darin, daß sich ein Messer stets in derselben Ebene befindet, das Objekt aber um so viel gehoben wird, als die Dicke des Schnittes betragen soll. Entweder wird das Messer bewegt, oder es steht fest und das Objekt muß bewegt werden; das Objekt wird durch eine Mikrometerschraube oder dadurch gehoben, daß es auf einer schiefen Ebene bewegt wird.

Wir benutzen ein einfaches Mikrotom, das nicht nur billig ist, sondern auch vielen Anforderungen der Mikrotomtechnik gerecht wird. Es ist das sogenannte Studentenmikrotom von R. Jung in Heidelberg, das 28—70 Mark kostet. Natürlich kann man nicht alles das von ihm verlangen, was ein Mikrotom leisten kann, das 150—350 Mark und mehr kostet.

Die Studenten- oder Demonstrationsmikrotome werden von Jung in zwei Formen, in einer alten und in einer neuen, geliefert. Wir beschäftigen uns zunächst mit der alten Form, die in der Fig. 24 dargestellt ist.

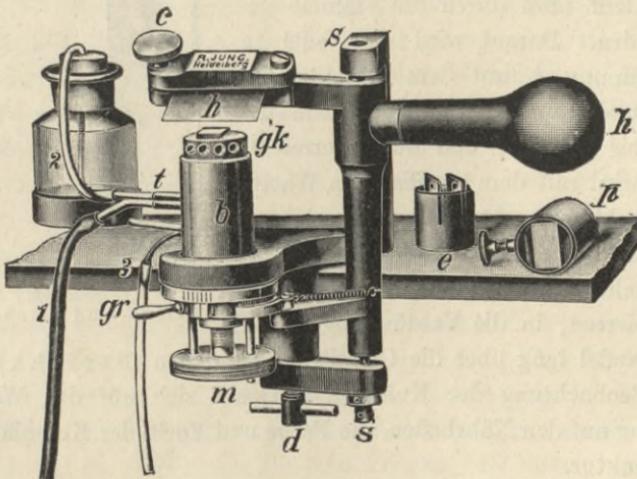


Fig. 24. Mikrotom A von Jung.
(Erklärungen im Text.)

Es besteht aus einem gußeisernen Gestell, das in seinem unteren Teile mit einer Schraubzwinge versehen ist, mit der man es mittels der Knebeschraube *d* am Tisch festschraubt. Zur Bewegung des Messers dient die senkrechte Achse *a*, die zwischen die beiden Spitzenschrauben *s* gelagert ist. Sie besitzt zwei wagerechte Verlängerungen, den Handgriff *h* und den

Messertträger. Durch Anziehen der Schraube *c* wird das Messer *h* eingespannt. Wir schieben es so weit zwischen die Backen, daß der Anfang der schrägen Fläche etwas vor dem Messertträger liegt. Die schräge Fläche kann nach oben oder nach unten gerichtet sein, die günstigste Stellung wird man bei den einzelnen Präparaten meist durch Versuche feststellen müssen.

Der vordere flache Teil des Gestells trägt unten die Mikrometerschraube *m* und oben einen mit Schlitz versehenen Zylinder *b*, der zur Führung für die Objektklammer *p* und die Gefrierkammer *gk* dient.

Durch die Drehung der Mikrometerschraube *m* von links nach rechts wird das Objekt gehoben. Ist diese Schraube ohne Einteilung, so daß man die Dicke der Schnitte nach dem Gefühl bestimmen muß, so kostet das Mikrotom 28 Mark.

Die Schraube kann aber mit einer Einteilung und Einschnappvorrichtung versehen werden. Die Abstände ergeben eine Schnittdicke von 0,005 mm. Auf der Schraube kann man an einer Skala, die tausendstel Millimeter angibt, die Schnittdicke ablesen. Soll die Mikrometerschraube zurückgedreht werden, so stellt man einen Hebel nach unten, wodurch die Feder zurückgepreßt wird (Preis 33 Mark).

Andere Mikrotome besitzen eine automatische Einstellung der Schnittdicke. Die betreffende Dicke wird am Index *gr* in unserer Abbildung eingestellt. Die Abstände der einzelnen Striche entsprechen einer Schnittdicke von 0,005 mm. Die Einstellung geschieht durch die Bewegung der Achse *a*. Beim Schneiden ist darauf zu achten, daß der Griff so weit nach vorn bewegt werden muß, daß der Hebel der Achse, auf dem sich der eingreifende Zahn befindet, am Gestell anstößt (Preis 42 Mark).

B e h a n d l u n g d e s M i k r o t o m s. Um das Mikrotom in gutem Zustande zu erhalten, muß es öfter mit einem reinen Lappen und etwas Benzin gereinigt werden. Besonders erforderlich ist es für die Spitzen der Schrauben *s*, die man aber nicht herausschraubt, die Mikrometerschraube, den Führungszyylinder, besonders innen, und die Einsätze.

Alle Gewinde der beweglichen Schrauben an dem Mikrotom schmiert man von Zeit zu Zeit mit Knochenöl, den Führungszyylinder innen mit wenig Vaseline. Wenn sich die Lager der Spitzenschrauben *s* mit der Zeit so ausgelaufen, daß die Achse *a* nicht mehr sicher geht, so löst man mit einem Stift die Mutter unten an *s*, indem man nach links dreht, schraubt *s* etwas weiter hinein und zieht die Mutter wieder fest an. Die Achse *a* darf nicht wackeln; sie muß so viel Reibung haben, daß sie sich durch das Übergewicht des Messerträgers nur langsam dreht, wenn sie mit dem Mikrotom wagerecht gehalten wird.

Beim Tragen darf man das Mikrotom weder am Griff, noch an der

Mikrometerschraube oder auch am Führungszylinder, sondern einzig und allein am Gestell fassen.

Das Mikrotommesser. Das bei der alten Form der Mikrotome verwandte Messer ist ein sogenanntes Hobelmesser. Es muß ähnlich behandelt werden wie ein Rasiermesser. Das Abziehen wird bequemer gemacht durch einen Griff, in den man das Messer schrauben kann. Um es vor Rost zu schützen, wird es mit Paraffin eingerieben und stets sorgfältig gereinigt.

Die Benutzung des Mikrotoms wollen wir in den folgenden Übungen kennen lernen.

38. Knorpelgewebe.

Zuerst wollen wir mit dem Mikrotom harte Objekte schneiden, aus denen wir auch mit dem Rasiermesser Schnitte gewinnen könnten.

Wir untersuchen den Rippenknorpel eines Säugetieres, womöglich eines Kalbes. Mit einem scharfen Taschenmesser schneiden wir ein Stück von etwa 0,5 cm Höhe heraus und legen es vorläufig in eine 0,75prozentige Kochsalzlösung (sogenannte *physiologische Kochsalzlösung*).

Nun schneiden wir einen Kork an zwei parallelen Seiten flach, so daß er in den Objekthalter *p* (Fig. 24) paßt. Auf die Oberseite des Korkes bringen wir einen Tropfen Gummi arabikum, trocknen unser Knorpelstück mit Löschpapier flüchtig ab und bringen es in den Gummitropfen. Wir halten beide Teile mit den Fingern zusammen und träufeln dann Alkohol auf den Gummileim, damit er erhärtet.

Jetzt spannen wir das Objekt mit dem Kork in den Objekthalter ein und schieben diesen (was auch vorher geschehen kann) in den Zylinder *b*, bis er die Mikrometerschraube berührt, die vorher ganz zurückgedreht wurde. Wir achten nun darauf, daß das Messer bei seinem ersten Schnitt nur eine *dünne Schicht* wegnehmen darf; dazu müssen wir Messer und Objekt so lange verstellen, bis dieses der Fall ist. Niemals darf man mit dem Mikrotommesser ein dickeres Stück abschneiden. Soll der obere Teil des Objektes wegfallen, so müssen wir mit einem anderen Messer den Teil wegnehmen, oder wir müssen mit dem Mikrotom kleine Schichten nacheinander wegnehmen.

Das Objekt befeuchten wir mit wenig physiologischer Kochsalzlösung.

Nun fassen wir den Griff *h* mit der rechten Hand und bewegen ihn zurück, wobei das Messer durch das Objekt geht. Dabei darf aber kein Druck *nach unten* auf den Griff ausgeübt werden; man faßt daher auch besser mit zwei Fingern in wagerechter Ebene statt mit der ganzen Hand an. Der Schnitt bleibt auf dem Messer haften und wird mit einem

weichen Pinsel abgenommen und in ein Uhrglas mit physiologischer Kochsalzlösung übertragen. Der erste Schnitt ist aber nicht zu gebrauchen.

Das Messer wird zurückbewegt, und, falls das Mikrotom keine automatische Einstellung besitzt, die Mikrometerschraube um einige Zähne weitergedreht. Dann kann ein neuer Schnitt gemacht werden.

Die ersten Schnitte nehmen wir nicht zu dünn. Erst wenn sie uns gut gelingen, schneiden wir sie dünner. Ob wir das Messer schneller oder weniger schnell durch das Objekt führen müssen, müssen wir ausprobieren. Bessere Schnitte erhält man manchmal, wenn man das Messer umdreht. Bestimmte Regeln lassen sich nicht aufstellen.

Wenn wir eine Anzahl gut gelungener Schnitte gewonnen haben, schrauben wir das Messer ab. Nachdem es mit einem Tuch abgerieben ist und auf dem Riemen abgezogen wurde, wird es mit Paraffin bestrichen und vorsichtig weggepackt. Etwa naß gewordene Teile des Mikrotoms werden ebenfalls trocken gerieben, bevor das Mikrotom in seinem Kasten untergebracht wird.

Von einem Schnitt stellen wir ein Präparat in physiologischer Kochsalzlösung her.

Unter dem Mikroskop sehen wir (Fig. 25), daß der Knorpel aus einer vollständig gleichgestalteten Grundmasse (homogene Interzellularsubstanz) gebildet wird, in die lebende Zellen eingelagert sind. Diese Zellen haben rundliche Gestalt und sind von stärker lichtbrechenden Kapseln umgeben, die wir als Zellmembran ansehen müssen.



Fig. 25. Knorpel.

x Knorpelzellen; i Grundsubstanz.

Das Protoplasma besonders der jüngeren Zellen enthält oft Glykogen. Um dieses nachzuweisen, fügen wir einen Tropfen verdünnte Jodlösung hinzu. Das Glykogen färbt sich mahagonibraun. Finden wir solche Stellen in unserem Präparat, so erwärmen wir es vorsichtig über der Flamme. Die Farbe schwindet dabei.

Nun betten wir einen Schnitt in Alkohol ein, besser noch übertragen wir ihn zuerst in einen mittelstarken Alkohol und von da in Alkohol unter das Deckglas.

Wir sehen, daß die Zellen eingeschrumpft sind und ihre Höhlen nicht mehr vollständig ausfüllen. Zwischen Protoplasma und Kapsel findet sich ein leerer Raum.

Einen anderen Schnitt wollen wir färben. Wir fixieren ihn dazu vorher.

In einem Reagenzglas bringen wir zu 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 0,7 g Quecksilberchlorid oder Sublimat und erwärmen, bis es sich aufgelöst hat; dann lassen wir erkalten. Mit dieser Lösung füllen wir ein Uhrglas, fügen zwei Tropfen Essigsäure hinzu und bringen 2—3 Minuten unseren Schnitt hinein. Da Sublimat Metalle angreift, was nicht nur schädlich auf diese wirkt, sondern auch Niederschläge im Präparat hervorbringen kann, müssen wir uns beim Übertragen eines Pinsels, eines Holz- oder Glasstabes bedienen.

Wir spülen den Schnitt in physiologischer Kochsalzlösung ab und bringen ihn in 70prozentigen Alkohol, dem wir einige Tropfen alkoholische Jodlösung hinzufügen.

Danach kommt der Schnitt 24 Stunden in Safranin. Wir stellen uns die Lösung her, indem wir 0,3 g Safranin in 100 ccm 30prozentigen Alkohol bringen. Ausgewaschen wird mit absolutem Alkohol. Durch Xylol kann dann in Kanadabalsam eingebettet werden.

Die Beobachtung zeigt uns, daß die Grundsubstanz orange gefärbt ist. Die Zellkerne erscheinen rot.

Sehr haltbar ist diese Knorpelfärbung nicht.

Das Grundgewebe der Knorpeln enthält feine Bindegewebsfibrillen, die aber von einem Stoff (Chondromucoid) umschlossen und daher unsichtbar sind. Diesen Stoff müssen wir zerstören, wenn wir Fibrillen sichtbar machen wollen.

Wir füllen ein Reagenzglas mit stark verdünnter Kalilauge und bringen einen Schnitt hinein, wodurch das Chondromucoid zerstört wird. Mit Wasser wird ausgewaschen. Um die Fibrillen gut sichtbar zu machen, müssen wir sie färben.

In 30 ccm gesättigter wäßriger Pikrinsäurelösung bringen wir 0,75 g Säurefuchsin. Damit füllen wir ein Uhrglas und geben einen Tropfen stark verdünnter (etwa 1prozentiger) Essigsäure hinzu. Dann färben wir den mit Kalilauge behandelten Knorpelschnitt ungefähr 30 Minuten darin (die Färbung kann auch bis 24 Stunden währen). Den gefärbten Schnitt lassen wir abtröpfeln und bringen ihn für einige Sekunden in Wasser, dem wir einige Tropfen unserer Farbe hinzugesetzt haben. Darauf kommt er 3 Minuten in 96prozentigen, dann 5 Minuten in absoluten Alkohol und durch Xylol in Xylolbalsam.

Unter dem Mikroskop zeigt sich, daß sich in der gelb gefärbten Umgebung rote Bindegewebsfibrillen befinden.

Das Glas des Objektträgers und des Deckglases zerstört die Färbung bald. (Sollte sie länger haltbar sein, dürften die Objektträger und Deckgläser nicht aus gewöhnlichem Glas, sondern z. B. aus Quarz gefertigt sein.)

39. Zähne der Wirbeltiere.

Die Zähne sind zu hart, um ohne weiteres geschnitten werden zu können, da in der organischen Grundmasse verschiedene anorganische Substanzen, unter denen die Kalksalze die erste Stelle einnehmen, enthalten sind, wodurch der Zahn erst seine Festigkeit erhält. Vor dem Schneiden muß der Zahn *e n t k a l k t* werden. Als Entkalkungsflüssigkeiten dienen Säuren; für die Zähne kommen in Betracht: Salz-, Salpeter-, schweflige Säure. Wir verfahren auf folgende Weise.

Wir sättigen 50 ccm Wasser mit *K o c h s a l z* und gießen noch 100 ccm Wasser zu. Dann fügen wir 30 ccm *S a l z s ä u r e* hinzu. Der Zahn kommt in eine reichliche Menge dieser Flüssigkeit, der wir von Tag zu Tag noch ein wenig Salzsäure zugießen, bis der Zahn biegsam geworden ist.

Dann kommt er in eine wäßrige Lösung, deren Hälfte mit Kochsalz gesättigt wurde. Wir prüfen mit Lackmuspapier und merken, daß die Flüssigkeit bald sauer reagiert. Dann schütten wir Salmiakgeist hinzu bis zur Neutralisation. Dieses wiederholen wir so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Diese Entkalkungsmethode erfordert zwar längere Zeit, liefert aber gute Resultate.

Von dem Zahn stellen wir mit Hilfe des Mikrotoms ebenso Schnitte her wie von dem Knorpel und bringen sie ebenfalls in ein Glas mit physiologischer Kochsalzlösung.

Das *Z a h n b e i n* oder *D e n t i n* besitzt sehr feine Röhren, die *Z a h n k a n ä l e* genannt werden. Diese haben einen ziemlich regelmäßigen Verlauf, da sie alle von der Zahnpulpa nach der Oberfläche ausstrahlen. Manche verzweigen sich, andere laufen ineinander über. Die die Kanälchen begrenzende Schicht ist besonders hart und bildet Scheiden (*Z a h n s c h e i d e n*) um die Kanälchen. An der Oberfläche des Dentins, dort, wo es an den Schmelz oder Zement grenzt, können oft viel größere Hohlräume vorhanden sein, die Interglobularräume heißen und mit den Kanälen in Verbindung stehen.

Die Kanäle sind gut sichtbar, wenn sie mit Luft gefüllt sind. Um ein solches Präparat zu erhalten, verfahren wir auf folgende Weise.

Einen Schnitt legen wir auf das erste Drittel eines Objektträgers und decken einen zweiten darüber. Zwischen den beiden Objektträgern bringen wir ihn in Alkohol. Ohne diese Vorsichtsmaßregeln würde er sich leicht aufrollen. Wenn er von Alkohol durchdrungen ist, legen wir ihn auf einen trockenen Objektträger und decken ein Stück Löschpapier darüber; darauf kommt ein zweiter Objektträger, den wir mit einem kleinen Gewicht beschweren. So bleibt der Schnitt einen Tag zum Trocknen an der Luft

liegen. Am nächsten Tag bringen wir auf einen Objektträger einen flachen Tropfen Kanadabalsam und legen den Schnitt hinein. Nun bedecken wir ein Deckglas mit Balsam und decken es auf den Schnitt. Dann erwärmen wir das Präparat etwas und drücken das Deckglas an. Die Kanäle usw. des Präparates enthalten Luft und erscheinen unter dem Mikroskop schwarz.

Wir färben einen Schnitt wie den Knorpel oder nehmen die Färbung mit **B o r a x k a r m i n** vor (siehe S. 40).

In diesem Schnitt suchen wir unter dem Mikroskop noch die **P u l p a** auf, die vom Dentin umschlossen ist. Es ist ein weiches Bindegewebe, das reich an Nerven und Gefäßen ist. Auf der Grenze zwischen Dentin und Pulpa stehen dicht aneinander hohe, zylinderförmige Zellen, die **O d o n t o b l a s t e n** genannt werden.

40. Die Leber des Schweins.

Die **L e b e r** ist eine Drüse am Mitteldarm zur Bereitung der Galle (und vielleicht auch anderer Stoffe). Bei manchen Tieren fehlt die Leber und wird durch Zellen des Darmepithels ersetzt, oder es münden kleinere und größere Drüsen in Blindsäcke des Blinddarms. Sind die Drüsen sehr groß und vom Darm abgerückt, so werden sie als Leber bezeichnet.

Die Leber entsteht bei den Wirbeltieren als (paarige) Ausstülpung des Mitteldarms gleich hinter dem Magen. Durch baumartige Verzweigungen verwandelt sie sich in ein baumartiges Organ. Die feinsten Verzweigungen vereinigen sich vielfach. Es entsteht ein Flechtwerk aus hohlen Strängen, den sogenannten **G a l l e n g ä n g e n**; ihre Wände werden aus **L e b e r z e l l e n** gebildet. Die abgesonderte Galle fließt durch die Gallengänge, deren feinste **G a l l e n k a p i l l a r e n** genannt werden, in den Darm.

Die **B l u t g e f ä ß e** verzweigen sich in der Leber wie die Gallengänge. Sie sind die feinsten Verzweigungen der **P f o r t a d e r v e n e**, die das in den Eingeweiden gesammelte Blut der Leber zuführt. Sie vereinigen sich zur **L e b e r v e n e**, die in die Hohlvene mündet.

Um die Leber zu ernähren, sendet die **L e b e r a r t e r i e** ebenfalls ein Kapillarnetz aus.

Zu Übersichtsbildern von der Leber empfiehlt sich besonders die **L e b e r d e s S c h w e i n e s**.

In dem bräunlich gefärbten Organ finden sich dunklere Flecke, die **L e b e r i n s e l n** oder **L e b e r l ä p p c h e n**; sie bilden gleichsam eine Leber im kleinen und werden von Bindegewebe begrenzt. Wir fixieren ein Stück der Leber aus der Nähe der Pfortader und ein Leberläppchen.

Zum **F i x i e r e n** verwenden wir **F o r m a l d e h y d** oder **M e t h y l**

aldehyd. Die Ware, die man im Handel erhält, hat 40 % Aldehyd; sie wird unter verschiedenen Namen geführt: Formalin, Formol. Wir wollen den Ausdruck *F o r m o l* verwenden und darunter nicht Formaldehyd, sondern die Handelsware verstehen, so daß also 10prozentiges Formol nicht unter 100 ccm 10 ccm Formaldehyd, sondern 10 ccm Formol enthält (also 4 ccm Formaldehyd).

Wir bringen unsere Leberstücke 24 Stunden in 10prozentiges Formol, dann waschen wir mit fließendem Wasser aus, indem wir einen schwachen

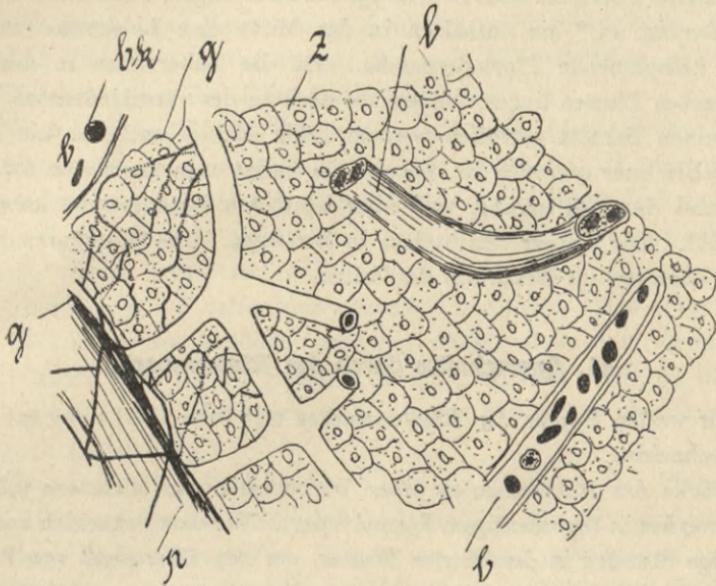


Fig. 26. Leber.

p Pfortadervene; *g* Gallengänge; *b* Blutgefäße; *bb* Blutkörperchen; *z* Leberzellen.
(Die Zellen sind übertrieben groß gezeichnet.)

Strahl der Wasserleitung in das Glas treffen lassen. Man muß so regeln, daß die Stücke nicht über den Rand wegschwimmen.

Nach dem Waschen bringen wir die Stücke in 50prozentigen Alkohol, darauf in 70-, dann 90prozentigen. Sind sie noch nicht hart genug zum Schneiden, so müssen wir in noch stärkeren Alkohol überführen.

Geeignete Stücke werden wie beim Knorpel auf Kork geklebt und in den Objekthalter des Mikrotoms eingespannt.

(Bemerken wollen wir, daß diese Stücke jetzt ebenfalls aus freier Hand mit dem Rassierrmesser und daß die in Formol gelegenen Leberstücke sehr schön mit dem Gefriermikrotom geschnitten werden können.)

Die Schnitte bringen wir zuerst in 70prozentigen Alkohol. Wir färben sie dann mit *H ä m a t o x i l i n l ö s u n g*, wodurch wir schöne Übersichts-

bilder erlangen können (siehe S. 34). Besondere Obacht geben wir auf das Überfärben der Schnitte, überfärben auch einen Schnitt absichtlich und vergleichen den Schnitt dann unter dem Mikroskop mit anderen.

Wir sehen dann im Schnitt, der im Glycerintropfen liegt, die Leberzellen mit den Kernen, die Gallengänge und -kapillaren, vielleicht auch die Pfortadervene, die von Gallengängen begleitet und umspinnen ist. In den Blutgefäßen sind auch Blutkörperchen zu finden (siehe auch Fig. 26).

Um eine Übersicht beim Leberläppchen zu erlangen, wenden wir 60fache Vergrößerung an. Sie enthalten in der Mitte eine Lebervene und am Rande umspinnende Pfortadergefäße. Da die Lebervenen in den verschiedensten Ebenen liegen, können sie auch in der verschiedensten Weise durch einen Schnitt getroffen werden. Wir suchen auch, ob ein Pfortaderästchen quer getroffen ist, neben ihm findet man dann den Arterienzweig und den Gallengang, und alles ist durch Bindegewebe kabelartig eingehüllt. Die Leberzellen stehen in Strängen. Die Kapillaren bilden starke, engmaschige Netze um die Zellen.

41. Querschnitte durch das Rückenmark.

Wir wollen Stücke des Rückenmarkes mit dem Gefriermikrotom schneiden.

Stücke des Rückenmarkes eines Wirbeltieres von höchstens 0,5 ccm Größe werden in 10prozentigem Formol fixiert. Vor dem Schneiden kommen sie einige Stunden in destilliertes Wasser, um den Überschuß von Formol zu entfernen.

Man kann die Objekte auch frisch mit dem Gefriermikrotom schneiden. Durch die Behandlung mit Formaldehyd werden sie aber widerstandsfähiger und können deshalb bequemer gehandhabt werden. Schon 30—60 Minuten genügen, wenn die Zeit schnelles Arbeiten erfordert.

Beim Gefrieren kommt es durch die sich bildenden Eisnadeln zu Zerreißen, die beim Auftauen des Schnittes kaum bemerkbar sind, aber doch nicht ganz ausgeglichen werden. Neben diesem Nachteil besteht der andere, daß sehr dünne Schnitte nicht immer (besonders im Sommer) in brauchbarer Form zu erhalten sind; dagegen gestatten sie ein schnelles Arbeiten, was für Diagnosen oft von großem Vorteil sein kann. „Die Gefriermethode wird in der Regel von den Pathologen ebenso gerühmt wie von den Zoologen getadelt, von jenen viel geübt, von diesen vernachlässigt“ (P. Mayer).

Drei verschiedene Mittel können für das Gefrieren verwendet werden:

Äthyläther (Schwefeläther), Kohlendioxyd (Kohlensäure) und Äthylchlorid. Für jedes Mittel ist eine besondere Gefrierkammer erforderlich, so daß man sich für eine Art des Gefrierenlassens entscheiden muß.

Gefrieren mit Schwefeläther. Der Apparat ist dargestellt bei Fig. 24. Das Objekt wird in der Dicke von 2—3 mm auf den gerauhten Gefrierkammerdeckel aufgelegt und mit einem Tropfen der Härteflüssigkeit oder mit Wasser eingeschlossen. In die Kammer *b* wird der Zerstäuber *t* soweit wie möglich eingeschoben, so daß das längere Röhrchen sich unten befindet. Auf sein Ende wird der Schlauch des Gebläses geschoben. Das andere Röhrchen wird durch einen Schlauch mit dem Fläschchen 2 verbunden, das zum Teil mit Äther gefüllt wird. Die Flasche wird in den Ring des Hebels gestellt.

Wenn das Gebläse in Tätigkeit gesetzt wird, zerstäubt der Äther an der Unterseite des Gefrierkammerdeckels, wobei das Präparat zum Gefrieren kommt. Das Gebläse muß während des Schneidens in mäßiger Tätigkeit bleiben. Es richtet sich ganz nach der Temperatur der Umgebung, wieviel Äther zerstäubt werden muß. Ein Übermaß erschwert das Gefrieren; es soll daher kein oder doch nur wenig Äther ablaufen.

Vorteile dieser Methode bestehen darin, daß man überall Äther haben kann, auch in den geringen Mengen, die man vielleicht nötig hat.

Nachteile sind, daß man während des Schneidens den Apparat in Tätigkeit halten muß.

Gefrieren mit Äthylchlorid. Nachdem das Präparat wie beim Äther auf die Kammer gebracht ist (*GK* in Fig. 27), wird von unten her durch die große seitliche Öffnung ein wenig Äthylchlorid gegen die Unterseite des Deckels gespritzt, um den oberen isolierten Teil der Kammer abzukühlen. Dann spritzt man von oben direkt auf das Präparat und wartet, bis das Äthylchlorid verdunstet ist. Ist das Präparat noch nicht gefroren, wiederholt man die Bespritzung des Präparates. Es darf aber keine Flüssigkeit dabei ablaufen. Infolge der Isolierung des oberen Teiles der Kammer und infolge des dort angebrachten Geflechtes findet ein Nachgefrieren des Präparates statt. Dadurch wird das Präparat viel länger im gefrorenen Zustande erhalten; es kann aber auch das Präparat zu hart werden.

Vorteile dieses Verfahrens: Einfacheres, sichereres Verfahren. Äthylchlorid riecht nicht und ist nicht feuergefährlich, was beim Äther der Fall ist, auch greift es die Metalle und das Schmieröl nicht so an wie dieser.

Nachteile: Äthylchlorid ist nicht überall zu haben, zu den ziemlich hohen Kosten kommt darum noch das Porto für die Sendungen.

Gefrieren durch flüssige Kohlensäure. Die mit

flüssigem Kohlendioxyd gefüllte Stahlflasche wird durch ein Metallrohr oder durch einen Metallschlauch mit der Gefrierkammer verbunden. Beim ganz kurzen Öffnen des Ventils der Flasche strömt Kohlendioxyd in die Gefrierkammer des Mikrotoms. Falls das Präparat noch nicht gefroren ist, muß man noch einmal ausströmen lassen. Auch hier tritt Nachgefrieren ein.

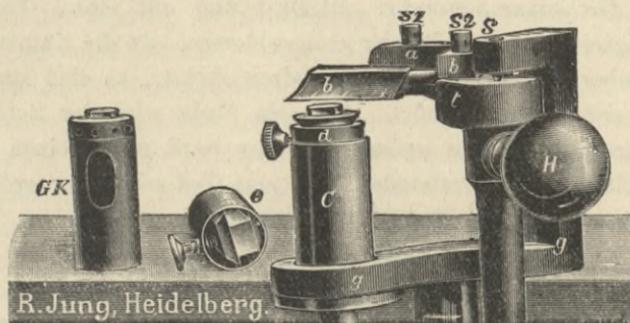


Fig. 27. Mikrotom B von Jung.

Vorteile: Schnelles, sicheres und bequemes Arbeiten.

Nachteile: Die Flasche beansprucht ziemlich viel Raum. Es verlohnt sich nur dann, diese Methode anzuwenden, wenn sehr viel mit dem Gefriermikrotom gearbeitet wird.

Nach dem Gebrauch des Gefrierapparates muß das Mikrotom sehr sorgfältig gereinigt werden, besonders nach dem Gebrauch von Äther, in dem sich Öl löst.

Wir bringen die erhaltenen Schnitte vom Rückenmark, die nicht zu dünn sein sollen, in Wasser und färben sie mit Pikrokarmín. Nachdem wir mit Wasser ausgewaschen haben, untersuchen wir in verdünntem Glycerin.

42. Silberimprägation.

Wir bringen ein Stück Wirbeltierrückenmark, das höchstens 0,5 cm groß ist, in eine 2prozentige Lösung von Kaliumbichromat. In 20—30 Tagen ist das Material verwendbar, wenn wir häufig wechseln und den Gehalt an Salz allmählich auf 5 % steigern. Besser ist es, möglichst lange zu warten (1½ Monate), da der Erfolg dann sicherer eintritt.

Aus diesem Gemisch kommen die Schnitte in eine reichliche Menge 0,75prozentiger Silbernitratlösung (Höllensteinlösung), die gegebenenfalls nach einigen Stunden noch einmal zu wechseln ist. Die Reaktion tritt nach 24—30 Stunden gewöhnlich ein. Die Stücke können aber lange Zeit in der Lösung verbleiben, ohne Schaden zu nehmen. Die Wirkung tritt unter dem Einfluß der Wärme schneller ein; im Winter wird

man das Präparat also am besten in die Nähe des Ofens stellen. Da Silberverbindungen durch das Licht beeinflußt werden, halten wir dieses fern.

Aus dem Silberbade kommt das Stück in Alkohol, der so lange gewechselt werden muß, bis auch nach tagelangem Verweilen kein Niederschlag und keine Trübung mehr entstehen.

Dann kleben wir das Stück mit Gummi arabikum auf einen Kork, halten einige Zeit mit der Hand fest und legen dann das Ganze in Alkohol, um das Gummi zu härten.

Nun können wir Schnitte herstellen, die wir nicht zu dünn wählen, um den Verlauf der Elemente verfolgen zu können.

Meist imprägnieren sich zuerst die Achsenzylinder, dann die Ganglienzellen, endlich die Neurogliazellen. Die Achsenzylinder mit Markscheide imprägnieren sich oft nicht gut.

Diese Methode eignet sich gut dazu, das Charakteristische der verschiedenen Elemente an einzelnen Stellen darzustellen, nicht aber dazu, aus den entstandenen Bildern endgültige Schlüsse zu ziehen.

Um die Objekte untersuchen zu können, waschen wir die Schnitte 3—4mal in Alkohol und führen sie durch Xylol in Kanadabalsam über. Unter dem Deckglas verderben die Objekte aber, weshalb, ist noch nicht festgestellt, darum lassen wir das Deckglas fehlen. Da aber die Oberfläche des Balsams niemals ganz glatt wird, können nur schwächere Vergrößerungen benutzt werden. Wir können daher auch auf folgende Weise verfahren: Wir bringen einen Tropfen Balsam auf ein Deckglas und betten das Objekt hinein. Dann schneiden wir aus starkem Karton (oder einem dünnen Brettchen) ein Loch aus, das etwas kleiner ist als das Deckglas, und kleben das Deckglas darauf. Beim Beobachten drehen wir das Objekt so, daß das Deckglas der Linse zugekehrt ist.

43. Das Einbetten eines Objektes in Paraffin.

Die meisten Objekte können nicht frisch oder gehärtet einfach mit dem Mikrotom geschnitten werden, auch die Gefriermethode ist nicht immer anwendbar, meistens ist es unbedingt erforderlich, die Objekte vorher in eine andere Masse einzubetten, mit der zusammen sie dann geschnitten werden. Dabei soll nicht nur ein äußerer Mantel um das Objekt gelegt werden, sondern die Einbettungsmasse soll die feinsten Räume im Objekt ausfüllen, damit beim Schneiden jede Verschiebung innerhalb der einzelnen Teile des Objektes ausgeschlossen ist.

Von Bedeutung als Einbettmassen sind Paraffin und Zelloidin

(K o l l o d i u m). Einfacher und für Objekte von geringer Ausdehnung auch am vorteilhaftesten ist die Paraffinmethode.

Wir wollen Schnitte durch die glatten Muskelfasern eines Säugetierdarmes herstellen, und legen daher einige Stücke eines frischen Darmes in eine Fixierungsflüssigkeit.

In 100 ccm Wasser lösen wir 3 g Kaliumbichromat und mischen 40 ccm dieser Lösung mit 10 ccm Formol. Die Darmstücke kommen auf einen Tag in dieses Gemisch und werden dann 3—4 Tage lang in der reinen Lösung von Kaliumbichromat gehärtet. Danach müssen sie einige Stunden gewässert werden, ehe sie in 70prozentigen Alkohol kommen. Aus diesem werden sie in 90prozentigen und dann in absoluten Alkohol übergeführt, um sie zu entwässern.

Vom Alkohol können die Objekte nicht gleich in Paraffin gebracht werden, da die beiden Stoffe sich nicht mischen, das Paraffin den Alkohol also nicht aus den Objekten entfernen kann. Als Intermedium werden die verschiedensten Stoffe verwendet. Wir benutzen entweder Benzol oder Zedernöl.

Beim Überführen in das Intermedium verfahren wir in derselben Weise, wie wir es bei Objekten ausführten, die in Balsam gebracht werden sollten (S. 41). Nachdem wir das Benzol noch einmal erneuert haben, um sicher allen Alkohol zu entfernen, fügen wir kleine Stückchen Paraffin hinzu und lassen sie sich bei gewöhnlicher Temperatur auflösen, was mehrere Stunden in Anspruch nimmt und einen ganzen Tag dauern kann.

Im Handel gibt es verschiedene Arten Paraffin, deren Schmelzpunkte von 40—42° bis 60—62° liegen. (Das Paraffin solidum, Ph. G. IV, Belg. III, Hung II und Ned. III Smp. etwa 74—78°, eignet sich nicht.) Die Wahl der Sorte richtet sich 1. nach der Härte des Objektes, härtere Objekte erfordern Paraffin von höherem Schmelzpunkt, 2. nach der Zimmer-temperatur, da von dieser natürlich die Härte des Paraffins mit abhängig ist, 3. nach der Dicke der Schnitte, die man erlangen will; je dünner sie sein sollen, desto fester muß das Paraffin sein. Für das Bänderschneiden eignet sich wiederum das weichere Paraffin besser (siehe unten S. 95).

Wir benutzen durchweg Paraffin vom Schmelzpunkt 46—48° oder solches mit dem Schmelzpunkt 52—53°.

Nachdem sich das Paraffin gelöst hat (bei 20° lösen sich etwa 8 Teile Paraffin in Benzol), bringen wir das Gefäß mit dem Objekt in das kalte Wasserbad und erwärmen dieses allmählich, so daß der Schmelzpunkt des Paraffins langsam erreicht wird. Das Benzol verdampft, das Gefäß muß also offen bleiben, und zum Ersatz schütten wir geschmolzenes Paraffin zu.

Einen besonderen Ofen brauchen wir dabei nicht. Als Wasserbad dient ein Blechgefäß mit dünnen Wänden (nicht emailliert). Die Menge des Wassers nehmen wir nicht zu groß. Wir erwärmen mit der Spirituslampe. Auch ein Nachtlicht (S. 71) leistet uns gute Dienste.

Die Zeit der Durchtränkung mit Paraffin richtet sich nach der Größe des Objektes und nach dem Widerstande, der dem Eindringen des Paraffins entgegengesetzt wird. Man soll die Objekte nicht zu lange im heißen Paraffin lassen, da sie durch die Hitze leiden können.

Die Darmstücke sind nach 2—3 Stunden meist genügend durchtränkt.

Das Benzol muß gründlich entfernt sein, da die Schneidfähigkeit sonst herabgesetzt wird; es ist daher vorteilhaft, kurz vor dem Einbetten das Paraffin nochmals zu wechseln.

Diese Gefahr ist bei der Verwendung von Z e d e r n ö l nicht vorhanden, da es das Schneiden nicht beeinträchtigt, wenn auch etwas davon im Präparat zurückbleibt. Auch sonst bietet es Vorteile; es dringt schnell in das Objekt ein, das nicht vollständig vom Wasser befreit zu sein braucht. Es genügt dabei die Verwendung 95prozentigen Alkohols.

Wenn die Objekte durchtränkt sind, müssen sie eingebettet werden, wobei das Paraffin sehr rasch abgekühlt werden muß; hierzu verwendet man kaltes Wasser. Beim Einbetten kann jedes kleinere flache Glasgefäß, Uhrschälchen z. B., oder auch ein Gefäß aus Metall benutzt werden. Für Paraffin insbesondere sind aber auch besondere Einbettungsrahmchen oder -formen im Gebrauch. Jung liefert zu dem Mikrotom ein solches Rähmchen (*e* in Fig. 24), dessen Grundfläche in Fig. 28 dargestellt ist. Es ist ein Hohlzylinder mit zwei Scheidewänden *a* und *b*, die herausgezogen werden können. Dieses Rähmchen wird auf eine Glasplatte gestellt, auf der man vorher mit dem Finger einen Tropfen Glycerin verrieben hat.

Nun wird etwas Paraffin eingegossen. Da es an den Wänden abgekühlt wird, fließt es unten nicht aus. Dann wird das Objekt hineingebracht und mit Paraffin nachgefüllt. Gießt man das Objekt gleich mit ein, so kommt es leicht dicht auf die Glasscheibe zu liegen. Mit einer heißen Nadel kann man dem Objekt jetzt die gewünschte Lage geben. Wenn das Paraffin oben eine feste Schicht bildet, bringt man das Rähmchen in kaltes Wasser. Nach dem vollständigen Erkalten kann man den Paraffinblock herausnehmen, wenn man vorher die Scheidewände entfernt.

Ganz kleine Objekte wird man im Uhrschälchen einbetten,

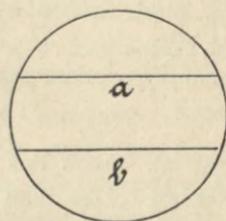


Fig. 28.
Grundriß des Einbettungsrahmchens.

das man dann auf kaltem Wasser schwimmen läßt und untertaucht, wenn die obere Schicht hart ist. Nachdem das Paraffin kalt ist, schneidet man mit einem wenig erwärmten Messer den Block heraus. Man kann das Glas auch vorher mit etwas Glycerin einreiben.

Statt dieser Mittel kann man sich auch eines Kästchens aus Papier bedienen, das man sich selbst auf einfache Weise herstellt.

Um einen Kork wird ein Papierstreifen festgewunden, so daß er an der einen Seite vorsteht. Wird nun eine Nadel durch das Papier in den Kork gesteckt, so hat man eine Papierkapsel.

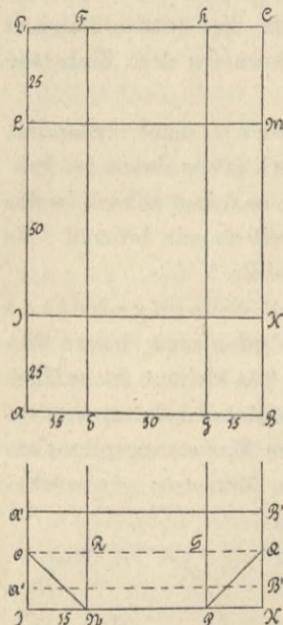


Fig. 29.

Oder ein Blatt Papier, beispielsweise habe es die Größe von 100×60 mm, $A B C D$ (Fig. 29) wird bei den Linien $E F$ und $G H$ nach oben gefaltet; diese Falten werden wieder zurückgeschlagen. Dann wird bei $J K$ und $L M$ nach oben gefaltet; diese Falten bleiben. Das folgende geben wir nur bei einer Seite an, bei der anderen ist es entsprechend durchzuführen. Nach der Faltung liegt $A B$ bei $A' B'$. Jetzt wird die Ecke J nach R in $N O$ und die Ecke K nach S in $P Q$ umgefaltet und darauf $A B$ nach oben darüber in der Linie $O R S Q$, so daß $A B$ jetzt bei $A'' B''$ liegt. Faßt man jetzt bei $R S$ an, und entsprechend an der anderen Seite, und zieht, so ist das Kästchen fertig.

Die Papierkästchen läßt man nach dem Einfüllen des Paraffins auf Wasser schwimmen und taucht sie unter, wenn die oberste Schicht

fest ist. Auch das Papier kann vorher mit etwas Glycerin eingerieben werden. Löst man das Kästchen nach dem Erkalten des Paraffins vorsichtig ab, so kann es noch einmal verwendet werden.

Ist das Einbetten nicht gut gelungen, zeigen sich Blasen, Höhlen usw., so lasse man das Herumbessern daran lieber und bette von neuem ein.

Im Paraffin können die Objekte längere Zeit aufbewahrt werden.

44. Das Schneiden des in Paraffin eingebetteten Objektes.

Wollen wir von unserem Paraffinpräparat jetzt Schnitte herstellen, so schneiden wir es in der Form eines Würfels aus dem Block heraus. Dann wird an vier Seiten möglichst viel Paraffin weggenommen, nur nicht

an der, die auf dem Mikrotom befestigt werden soll, und an der, bei der das Messer einsetzen soll. Wenn keine Bänder geschnitten werden sollen (siehe S. 95), ist es vorteilhafter, das Messer von einer Kante her eindringen zu lassen (Fig. 30). Das zugeschnittene Objekt wird auf ein in die Objektklammer passendes Stück hartes Paraffin, Kork, Holz, Stabilit aufgeschmolzen. Mit dem Rähmchen von Jung kann man einen passenden Paraffinblock gießen. Wir erhitzen einen Draht und berühren damit die untere Seite des Objektblockes, so daß etwas Paraffin schmilzt, und setzen das Stück schnell auf. Nun fahren wir noch vorsichtig mit dem Draht um den unteren Rand herum, um Unregelmäßigkeiten zu entfernen, und bringen das Ganze auf 10 Minuten in kaltes Wasser. Dann wird das Objekt in das Mikrotom eingespannt.



Fig. 30.
Zugeschnittener
Paraffinblock.

Beim Schneiden führen wir das Messer nicht zu schnell durch das Objekt. Das Messer wird beim Paraffinschneiden nicht angefeuchtet. Beim Schneiden können folgende Erscheinungen auftreten:

1. Die Schnitte rollen sich auf. Oft wird dieses sofort vermieden, wenn man die Schnitte dünner macht. Wir haben unseren Objektblock aber gleich für diese Erscheinung eingerichtet. Das Messer dringt zuerst in das Paraffin ein, berührt aber das Objekt noch nicht. Beginnt der Schnitt sich jetzt zu rollen, so halten wir ihn mit einem Pinsel (oder auch mit einem Papierstreifen) nieder, so daß er sich flach auf das Messer legen muß.

Beim Bänderschneiden tritt das Rollen nicht so leicht ein.

2. Die Schnitte schieben sich zusammen und werden wellig. Dann ist das Messer nicht ordentlich scharf oder das Paraffin ist zu weich, oder es ist beides der Fall. Die Härte des Paraffins richtet sich außer nach dem Schmelzpunkt natürlich auch nach der Temperatur der Umgebung. Kann man die Zimmertemperatur nicht herabsetzen, so hilft es manchmal, wenn man einen Wattebausch um das Paraffin legt, den man mit Äther tränkt. Das Messer muß natürlich geschliffen werden, falls es stumpf geworden ist.

3. Es entstehen Rillen in der Richtung des Messerschnittes. Es liegt entweder in einem Fehler der Messerschneide begründet, oder von dem Objekt lösen sich harte Bestandteile, die nicht geschnitten, sondern mitgerissen werden.

4. Die Schnitte zerbröckeln, weil die Objekte zu brüchig sind. Dann bestreicht man die obere Fläche des Blockes vor jedem Schnitt mit einer dünnen Schicht Kollodium.

5. Die Schnitte wollen nicht dünn genug werden. Sollte es an zu weichem Paraffin liegen, so siehe unter 2, sonst hilft das Bestreichen mit Kollodium (unter 4).

6. Die Schnitte haben sich gefaltet (siehe auch unter 1). Sie strecken sich beim Aufkleben (siehe unten). Man kann sie auch in ein Glas mit warmem Wasser bringen. Das Wasser darf natürlich nicht die Schmelztemperatur des Paraffins haben. Die Schnitte strecken sich.

45. Die Weiterbehandlung der losen Paraffinschnitte.

Die Paraffinschnitte können lose und einzeln weiterbehandelt werden, oder man kann sie vorher auf den Objektträger aufkleben. Das Aufkleben ist bei Serienschnitten unbedingt erforderlich, um die Schnitte in einer bestimmten Ordnung halten zu können; auch für unsere Schnitte aus dem Darm wäre diese Methode angebracht, wir wollen bei ihnen aber davon absehen, um uns zuerst mit der Behandlung loser Schnitte vertraut zu machen.

Hierbei stehen uns wieder zwei Wege offen, falls wir die Schnitte färben wollen: 1. sie können vor dem Färben vom Paraffin befreit werden, 2. sie können vor der Paraffinentfernung gefärbt werden.

1. Als Lösungsmittel des Paraffins sind verschiedene empfohlen worden; wir verwenden Xylol, das sich wohl am besten eignet (Benzol ist viel flüchtiger als Xylol). Wir füllen ein Uhrglas mit Xylol und bringen den Schnitt vom Mikrotom mit einem feinen Pinsel hinein. Wir lassen ihn so lange darin, bis es sehr durchsichtig erscheint, dann ist das Paraffin gelöst.

Soll der Schnitt nicht gefärbt werden, kann er jetzt in Xylolbalsam eingeschlossen werden.

Soll der Schnitt gefärbt werden, so bringen wir ihn aus dem Xylol in absoluten Alkohol. Jetzt kommt es darauf an, wie die Farblösung beschaffen ist, in der wir färben wollen. 1. In eine stark alkoholische kann der Schnitt aus dem absoluten Alkohol gebracht werden, 2. ist die Lösung schwach alkoholisch, so schalten wir 70prozentigen Alkohol ein, 3. bei wäßrigen Lösungen ist nach dem schwächeren Alkohol noch Überführung in Wasser nötig.

Wir färben einen Schnitt in Hämatoxilinlösung, nachdem er vorher in 70prozentigem Alkohol war. Nach dem Auswaschen verfolgen wir den umgekehrten Weg: schwächerer Alkohol, absoluter Alkohol, Xylol, dann kann der gefärbte Schnitt in Xylolbalsam eingebettet werden. Falls er in ein wäßriges Medium, z. B. Glycerin, eingeschlossen werden soll, ist dieser Weg rückwärts nicht nötig. Bei empfindlichen Schnitten ist vor dem reinen Glycerin eine Mischung von gleichen Teilen Glycerin und Wasser einzuschalten.

Manchmal ist es erwünscht, wenn man den Schnitt, un gefärbt oder gefärbt, erst untersuchen kann, ehe man ihn endgültig in Balsam überträgt. Man bringt ihn zu diesem Zweck in einen Tropfen Nelkenöl. Sowohl vom Xylol als vom absoluten Alkohol kann der Schnitt in Nelkenöl überführt werden.

2. Einen Schnitt wollen wir färben, ehe das Paraffin daraus entfernt wird. Dazu eignen sich auch die w ä ß r i g e n Lösungen. Wir verwenden P i k r o k a r m i n. Die Schnitte sind im Paraffin widerstandsfähiger gegen die Farben, darum lassen wir den Schnitt 24 Stunden auf der Farbflüssigkeit schwimmen. Dann legen wir ihn feucht auf den Objektträger und erwärmen m ä ß i g. Die Schnitte breiten sich aus und kleben am Objektträger. Nach dem Abspülen mit Wasser lassen wir den Schnitt gut trocknen und bringen ihn durch Xylol, in dem das Paraffin gelöst wird, in Kanadabalsam.

In unserem Präparat untersuchen wir die g l a t t e n M u s k e l n. Den glatten Muskelzellen fehlt gewöhnlich eine äußere Hülle; sie haben kein Sarkolemma. Sie bestehen aus einer geringen Menge Zellsubstanz, die um den Kern herumliegt, und aus der kontraktilen Substanz, die durchweg aus Fibrillen zusammengesetzt ist.

(Anmerkung. Zumeist empfiehlt es sich, nur aufgeklebte Schnitte zu färben, wie es in der folgenden Übung ausgeführt wird, da das Färben loser Schnitte viel lästiger ist.)

46. Herstellung und Weiterbehandlung von Schnittserien. Kernteilung.

1. G e w i n n e n u n d E i n b e t t e n d e s U n t e r s u c h u n g s m a t e r i a l s. Wir verwenden zu unserer Übung die Wurzelspitze der Bohne. Einige Bohnen (*Vicia Faba*) lassen wir mehrere Stunden in warmem Wasser aufquellen, bringen sie darauf in feuchte Sägespäne und stellen sie an einen warmen Ort. Nach 2—4 Tagen sind die Wurzelspitzen schon gebrauchsfertig. Wir schneiden die Spitzen etwa 5—8 mm weit ab, um sie zunächst zu f i x i e r e n.

Als F i x i e r m i t t e l stellen wir uns eine Mischung aus 5 ccm unserer 1prozentigen C h r o m s ä u r e und 1 ccm E s s i g s ä u r e her, die wir mit Wasser auf 30 ccm auffüllen. In dem Gemisch bleiben die Wurzelspitzen einige Stunden, dann werden sie mit Wasser gut ausgewaschen und durch Alkohol und Xylol in Paraffin eingebettet.

2. B ä n d e r s c h n e i d e n. Den Paraffinblock mit der eingebetteten Wurzelspitze schneiden wir so zu, daß die beiden gegenüberliegenden

Seiten parallel laufen. Wir dürfen das Messer jetzt nicht von einer Kante her eindringen lassen, darum schneiden wir den Block so, daß das Objekt einer Seite näher liegt als der anderen. Nun wird der Block befestigt und eingeklemmt wie vorher auch, nur achten wir darauf, daß der Block zu der angreifenden Messerkante parallel stehen muß. Von der Wurzelspitze wollen wir *Längsschnitte* herstellen. Wir müssen das Objekt im Block und beim Aufkleben so orientieren, daß dieses möglich wird.

Beim Schneiden lassen wir die Schnitte jetzt auf dem Messer liegen. Der Rand des neuen Schnittes stößt dann an den Rand des vorhergehenden. Wird jetzt *rasch* geschnitten, so wird durch den Druck des Messers etwas Wärme erzeugt, die Ränder des Paraffins werden etwas weich und kleben aneinander.

Dünnere Schnitte liefern besser Bänder als dickere. Ebenso entstehen sie besser und sicherer bei weicherem Paraffin. Ist das Paraffin (im Verhältnis zu der Zimmertemperatur) zu hart, um Bänder entstehen zu lassen, so umgibt man es mit einem Mantel weicheren Paraffins. Dazu kann man ihn einfach kurze Zeit in solches flüssiges Paraffin eintauchen. Nach dem Erkalten kann man an den nicht in Betracht kommenden Seiten das weiche Paraffin wieder abschneiden.

3. *Aufkleben der Schnitte.* Für unsere (ungefärbten) Schnitte verwenden wir zwei verschiedene Methoden des Aufklebens; wir benutzen entweder *Wasser* — wenn die Schnitte stark gefaltet sind — oder *Eiweiß*, falls es sich nicht bei den folgenden Maßnahmen mitfärben wird.

a) *Aufkleben mit Wasser.* Der Objektträger muß sehr gut gereinigt werden. Haucht man darauf, so muß der Hauch gleichmäßig auftreten und gleichmäßig verschwinden. Sonst muß das Glas mit Schlammkreide, Magnesium- oder Natriumkarbonat abgerieben werden; manchmal hilft es auch, wenn man es durch eine nicht rußende Flamme zieht; manchmal hilft auch gar nichts (dann ist es natürlich für andere Zwecke zurückzulegen).

Der Objektträger wird mit einem reinen Pinsel voll Wasser benetzt, und die Schnitte werden aufgelegt, wobei sie sich schon einigermaßen strecken.

Bei unseren Bändern verfahren wir *vorsichtiger*, da wir alle Schnitte in der *bestimmten Reihenfolge* behalten möchten. Mit einem feinen Pinsel ziehen wir einen Strich, der für eine Reihe Schnitte ausreicht, wobei wir das Glas anhauchen. Dann legen wir den Bandstreifen hinein. Nun streichen wir erst für die zweite Reihe das Wasser auf und so fort. Wir gehen also möglichst sparsam mit dem Wasser um,

damit keine Schnitte weggeschwemmt werden können. Es darf aber auch wiederum nicht zu wenig Wasser sein, so daß das der ersten Reihe verdunstet ist, wenn man mit der letzten fertig ist.

Nun lassen wir am Anfang und Ende jeder Reihe mit dem Pinsel etwas Wasser zufließen, damit die Schnitte sich ordentlich dehnen können. Dann muß der Objektträger erwärmt werden, aber nur so weit, daß das Paraffin nicht schmilzt. Dabei kann man wieder mit Vorteil das B o r n s c h e Tischchen (S. 66) verwenden. Auch über einer Flamme ist es — mit Vorsicht — ausführbar. Wenn sich alles gut gestreckt hat, muß man vielleicht mit dem Pinsel noch etwas ordnen, dann hält man den Objektträger schräg, damit das Wasser abläuft. Jetzt wird er bis zum nächsten Tage an einem staubfreien Orte aufbewahrt, und beim Trocknen haben sich die Schnitte fest an den Objektträger angelegt, so daß sie sich in den Farblösungen usw. nicht mehr lösen.

Schneller erreicht man dieses, wenn man bei etwa 40° trocknet (auf dem B o r n s c h e n Tischchen), nach einer halben Stunde ist schon genügende Festigkeit erreicht (sicherer ist es aber, wenn man länger wartet).

b) A u f k l e b e n m i t E i w e i ß. Rasch und sicher kann man die Schnitte mit Eiweiß aufkleben. Das Eiweiß von Hühnereiern wird geschlagen und durch Filtrierpapier filtriert, was ziemlich lange Zeit in Anspruch nimmt. Damit es nicht verdirbt, fügt man auf beiden Seiten ein Stückchen Kampfer oder Natriumsalizylat hinzu. Nach dem Filtrieren wird dieselbe Menge Glycerin hinzugegeben. Durch Schütteln vereinigen sich beide, und die Flüssigkeit wird in einer gut geschlossenen Flasche aufbewahrt.

Beim Gebrauch streichen wir mit einem Pinsel ein klein wenig von diesem Eiweiß auf den Objektträger und verreiben es mit der gut gereinigten Fingerbeere darauf. Wenn wir unter den Objektträger das weiße Blatt mit dem aufgezeichneten Deckglas gelegt haben, wissen wir den Raum am besten zu verwenden. Das Eiweiß darf nur in d ü n n e r Schicht auf dem Objektträger sein, darum verreiben wir es tüchtig und wischen dann noch mit dem Ballen der Hand über den Objektträger. Der Handballen muß ebenso wie die Fingerbeere auf einem reinen Tuche vorher gut abgerieben werden, da sonst leicht Epithelzellen der Haut am Glas haften bleiben könnten.

Jetzt werden die Schnitte aufgelegt und mit einem feinen Pinsel sanft angedrückt, falls sie unter der letzten Behandlung nicht leiden. Auf dem B o r n s c h e n Tischchen oder über einer Flamme wird so weit erwärmt, daß das Paraffin schmilzt. Dann wird dieses mit X y l o l aufgelöst. Vom Xylol kommen die aufgeklebten Schnitte in a b s o l u t e n A l k o h o l

und, falls nicht gefärbt werden soll, in Xylol zurück; dann wird ein Tropfen Balsam darauf gebracht und ein Deckglas aufgelegt. Der absolute Alkohol ist hier nötig, um das Glycerin zu entfernen, das sonst Trübungen hervorrufen würde. Das Glycerin ist dem Eiweiß beigemischt, um dieses vor dem Eintrocknen zu schützen.

4. Färben der aufgeklebten Schnitte. Zur Befreiung vom Paraffin kommen die Objektträger in Xylol. Zu diesen und allen folgenden Operationen hat man die verschiedensten Gläser hergestellt, die alle darauf ausgehen, die Objektträger vor Reibungen mit den Wänden oder anderen Gläsern und auch vor dem Umfallen zu schützen; gleichzeitig soll von den Farbstofflösungen auch eine geringe Menge ausreichend sein. Am einfachsten und billigsten sind kleine zylinderförmige Gläser oder Tröge für einen Objektträger. Man kann auch zwei Kristallisierschalen von geringem Inhaltsunterschied ineinander stellen. Wird die innere beschwert, so bietet der Raum zwischen beiden Platz für die Flüssigkeiten.

In Xylol und absolutem Alkohol verbleiben die Objektträger etwa je 5 Minuten. Ob vor dem Färben schwacher Alkohol und Wasser einzuschalten ist, richtet sich nach der Farbe (siehe S. 94).

Die Art und Weise des Färbens unterscheidet sich nicht von der unaufgeklebter Schnitte. Da die Farbstoffe aber nur von einer Seite einwirken können, müssen die Objekte manchmal ein wenig länger in der Farblösung bleiben als diese.

Zuerst bringen wir den Objektträger auf 24—48 Stunden in Safraninlösung. Dann waschen wir kurz in destilliertem Wasser aus und übertragen in absoluten Alkohol, dem eine Spur Salzsäure (1⁰/₁₀₀) zugesetzt wurde, bis sich wenig Farbstoff mehr löst. Dann wird noch einmal kurz in Wasser ausgewaschen.

Nun kommen die Schnitte in eine sehr dunkle Lösung von Gentianaviolett in Wasser. Nach 5 Minuten wird kurz mit Wasser ausgewaschen.

Dann bringen wir einen großen Tropfen konzentrierte wäßrige Orangefärbung auf die Schnitte, den wir nach 2 Minuten mit Wasser abspülen. Darauf waschen wir kurz mit absolutem Alkohol, dann mit Nelkenöl, bis keine blauen Gentianaviolettwolken mehr entstehen.

Nachdem nun ein Tropfen Xylolbalsam aufgetragen und das Deckglas aufgelegt ist, haben wir das Präparat fertiggestellt. Man muß sich versehen, den Balsamtropfen nicht auf die verkehrte Seite des Objektträgers zu bringen, und die Schnitte dann wegzuwischen!

Bei der Orangefärbung verfahren wir nach einer Methode, die dann anwendbar ist, wenn die Färbung nicht tagelang dauert, da der Tropfen

dabei leicht eintrocknen könnte. Sie ist ja nicht so bequem wie die andere, bei der der Objektträger in die Farblösung getaucht wird, hat aber den Vorteil, daß man stets frische Farbe verwendet, da der Tropfen abgespült wird. Die Farblösungen in den Tuben können bei der Benutzung durch Abgabe des Farbstoffes und Aufnahme neuer Stoffe allmählich verändert werden. Manchmal kann aber auch die Farblösung des Tropfens

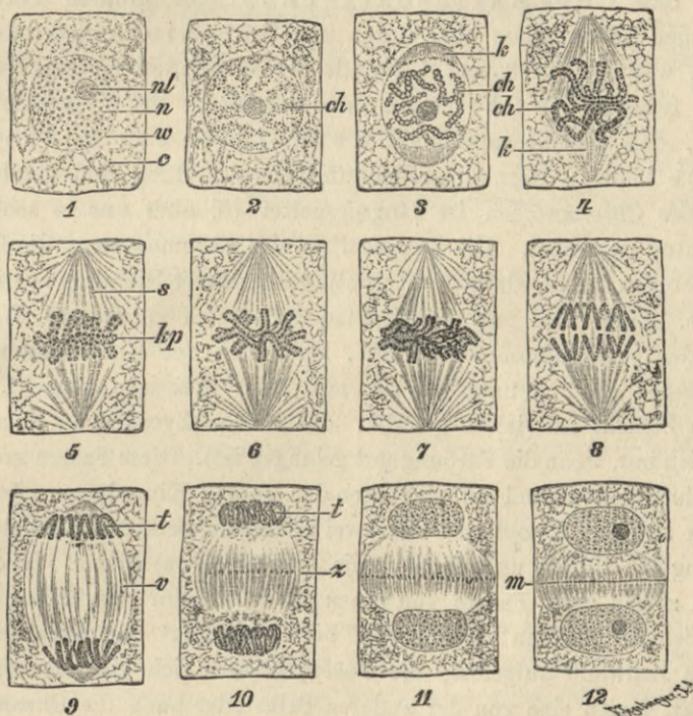


Fig. 31.

Aufeinanderfolgende Stadien der Kern- und Zellteilung in einer embryonalen Gewebezelle.

n Kern; *nl* Nucleolus; *w* Kernwandung; *ch* Chromosomen; *k* Polkappen; *s* Spindel; *kp* Kernplatte; *t* Tochterkernanlage; *v* Verbindungsfäden; *z* Zellplatte; *m* neue Scheidewand. In 1 der Kern in Ruhe. In 2 und 3 gegenseitige Trennung der Chromosomen. In 4 die Substanz der Chromosomen in dichtere und weniger dichte Querscheiben gesondert. In 5 Anordnung der Chromosomen zur Kernplatte und ihre Längsspaltung. In 3-5 Bildung der Spindelfasern aus den Polkappen. In 6 die Längsspaltung der Chromosomen. In 7 ihre beginnende Trennung in Richtung der Pole. In 8 vollendete Trennung der Tochterchromosomen. In 9 ihre Beförderung nach den Polen. In 10, 11 und 12 Bildung der Tochterkerne. In 9-11 Anlage der Verbindungsfäden und der Zellplatte. In 12 Ausbildung der neuen Scheidewand. Vergr. ca. 600mal.

durch die Berührung mit verhältnismäßig viel Luft schädlich beeinflusst werden.

5. Beobachtung der Kern- und Zellteilung¹⁾. Wir müssen eine ziemlich starke Vergrößerung verwenden und finden dann in

¹⁾ Nach Strasburger.

unserem Präparat die verschiedensten Stadien der Kern- und Zellteilung, die in der Fig. 31 etwas schematisiert dargestellt ist. In 1 sehen wir den ruhenden Zellkern mit einem oder mehreren Zellkörperchen (*n*). Aus seinem feinen Gerüstwerk hat sich in 2 der kürzer und dicker gewordene Kernfaden (*ch*) herausgesondert. An dem Faden ist an manchen Stellen eine mehr oder weniger deutliche Querstreifung zu erkennen. Sie kommt daher, daß Chromatinscheibchen eine größere Färbbarkeit bekommen haben, diese aber durch ungefärbte Lininbrücken verbunden werden. In 3 und 4 zerfällt der Kernfaden in eine bestimmte Anzahl Stücke, die Chromosomen heißen. Bei 5 sind sie so geordnet, daß sie die sogenannte Kernplatte oder Äquatorialplatte bilden. Kernkörperchen und Kernwandung sind geschwunden und jedes Chromosomen ist längsgespaltet (6, aber nur in sehr guten Präparaten zu sehen). Die Längshälften der Chromosomen, die Tochterchromosomen, sehen wir in 7—9 in entgegengesetzter Richtung auseinanderweichen. Aber nicht nur der Kernfaden hat sich verändert. Wenn der Kernfaden in Chromosomen zerfällt, legen sich der Kernwandung Zytoplasmafäden an und umgeben sie mit einer faserigen Schicht. Diese faserige Schicht ist violett gefärbt, das übrige Zytoplasma aber braun (natürlich nur, wenn die Färbung gut gelungen ist). Diese Fasern greifen bei der Teilung mitwirkend ein, sie führen den Namen Kinoplasma. In 2 sehen wir, wie sich das Kinoplasma von zwei entgegengesetzten Seiten der Kernwandung (*w*) abhebt und dadurch die Polkappen (*p*) bildet. In den Polkappen ziehen zarte Fasern von innen zu den Polen. Sie bilden Büschel, deren Scheitel bei den Polen liegen, bei 3. 4 zeigt das Kernkörperchen und die Zellwand aufgelöst; die Fasern haben sich einander entgegengestreckt, fassen eine von der anderen Seite oder auch die Chromosomen (Kernspindel, 4). Die von Pol zu Pol verlaufenden Fäden sind die Stützfasern, die an den Chromosomen angreifend die Zugfasern. Die Zugfasern ziehen die Chromosomen nach der Äquatorialebene (5, 6). Auch das Auseinanderweichen der Tochterchromosomen (7 und 8) bewirken sie durch Zusammenziehung. Die Stützfasern geben den nötigen Widerstand bei der Beförderung der Chromosomen (9), die sich in 10 an den Enden gleich einwärts biegen. Das Zytoplasma grenzt sich mit einer Haut gegen die Kernanlage ab (11). Die Chromosomen verschmelzen mit ihren Enden; sie strecken sich und winden sich ineinander (12). Das Chromatin nimmt ab, Zellkernkörperchen (Nukleolen) (ein oder mehrere) treten auf, und der Anfangszustand ist wieder erreicht.

Bei 8 und 9 sehen wir, daß die Stützfasern von Pol zu Pol bestehen bleiben und in 10 durch neue vermehrt werden, die hauptsächlich in der

Äquatorialgegend auftreten. Bei 10, noch mehr bei 11 bilden sie einen tonnenartigen Körper, die Fäden sind in der Mitte stäbchenartig angeschwollen; dadurch bilden sie die Zellplatte (11). Sie erreicht die Mutterzellwand und die aus ihr hervortretende Hautschicht teilt die Mutterzelle in zwei Teile. Die sich spaltende Hautschicht erzeugt die Membranscheidewand.

47. Querschnitte durch den Blutegel.

Blutegel (*Hirudo medicinalis*) sind in der Apotheke zu haben.

Wir stellen eine Quecksilberchloridlösung (S. 82) in destilliertem Wasser her und versetzen sie mit 5 % Essigsäure. Derein bringen wir einen Blutegel, der sofort getötet ist. Wir lassen ihn so lange darin, bis er ganz von der Flüssigkeit durchdrungen ist, was nach einer halben Stunde geschehen sein kann.

Der so fixierte Blutegel muß ausgewaschen werden. Wir verwenden Wasser, dem wir eine Lösung von Jodjodkalium hinzuträufeln. Diese Flüssigkeit wechseln wir, bis sie nicht mehr entfärbt wird.

Würde das Quecksilberchlorid nicht sorgfältig entfernt, so färbte sich das Objekt nicht gut. Wir erinnern uns daran, daß wir nicht mit Metallen in die Lösung kommen dürfen (und daran, daß Quecksilberchlorid ein starkes Gift ist!).

Nachdem wir gründlich ausgewaschen haben, schneiden wir aus dem mittleren Körperteil ein 0,6—0,8 cm großes Stück heraus, von dem wir Schnitte gewinnen wollen.

Wir bereiten uns eine Lösung von Alaunkarmin, indem wir 2 g Karmin und 5 g Alaun in 100 ccm Wasser 1 Stunde kochen. Zum Aufbewahren ist ein Zusatz von wenig Karbolsäure notwendig, da die Farblösung sonst verdirbt.

In dieser Farblösung wollen wir das ganze Stück färben. Vorteilhaft, wenn auch nicht nötig, ist es, wenn wir es erst von schwacher Lösung durchtränken lassen. Wir dürfen nicht zu wenig von der Farblösung verwenden, da sie sonst durch Flüssigkeiten, die aus dem Objekt austreten, verändert werden könnte. Die Farblösung muß von allen Seiten an das Objekt herankönnen, darum hängen wir es mit einem Faden darin auf. Nach 24 bis 36 Stunden ist das Stück durchgefärbt. (Die Stücke dürfen nicht zu groß genommen werden.)

Nun wird mit Wasser ausgewaschen, mit 70prozentigem, 90prozentigem absolutem Alkohol durchtränkt, in Xylol übergeführt und in Paraffin eingebettet.

Mit dem Mikrotom stellen wir Schnitte her, die wir mit Wasser oder

Eiweiß auf den Objektträger aufkleben. Das Paraffin wird gelöst (das Glycerin entfernt, in Xylol übergeführt) und aus Xylol wird der Schnitt in Balsam eingeschlossen.

Einen aufgeklebten Schnitt wollen wir mit Indigokarmin nachfärben. Wir bringen einen Tropfen wäßriger Lösung, die wir aus 0,2 g Indigokarmin und 100 ccm Wasser herstellen, darauf und spülen ihn nach 5 Minuten ab.

Bei der Beobachtung zeigt sich folgendes. Umgeben ist der Körper von einer sehr dünnen, strukturlosen Kutikula, die von der darunter-

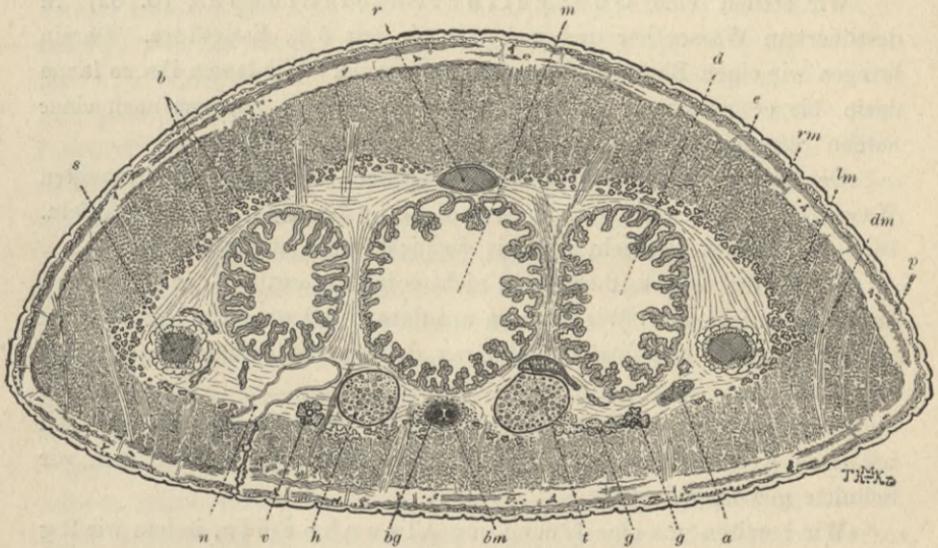


Fig. 32. Querschnitt der Körpermitte des Blutegels.

s Seitengefäß; *b* bothryoide Gefäße; *r* Rückengefäß; *m* Mitteldarm; *d* rechter Darmteil; *e* Epidermis; *rm* Ringmuskelschicht; *lm* Längsmuskelschicht; *dm* dorsoventrale Muskulatur; *p* Pigment; *n* Endblase eines Ausscheidungsorgans; *v* Vasa deferentia; *h* Hode; *bg* Bauchgefäß; *bm* Bauchmark; *t* Trichter des Ausscheidungsorgans; *g* Gang z. Vas. def.; *a* Stück des Ausscheidungsorgans. (Nach Kükenthal).

liegenden Epidermisschicht abgeschieden wird. Die Epidermis ist ein einschichtiges Epithelgewebe von ziemlich hohen Zellen, zwischen denen sich einzellige, schlauchförmige Drüsen finden, die mit körnigem Inhalt gefüllt sind. Darunter liegt eine Schicht, die von feinen Blutgefäßen durchzogen ist. Weiter treffen wir auf zwei Muskelschichten, die äußere ist die Ringmuskelschicht, die innere, viel mächtigere, ist die Längsmuskelschicht, die durch Muskelzüge, die von der Rücken- zur Bauchseite laufen, in einzelne Stücke geteilt ist. Auch schräge Muskelfasern finden sich nach innen von der Ringmuskelschicht. Zwischen der Muskelschicht und den inneren Organen liegt ein bindegewebiges Parenchym.

In der Mitte fällt als großer Kanal der *D a r m* auf. Neben ihm liegen links und rechts die ebenfalls durchschnittenen *D a r m b l i n d s ä c k e*. Ausgekleidet sind Darm und Blindsäcke mit einem stark gefalteten *E p i t h e l*. Neben den Blindsäcken liegt je ein Blutgefäß (*S e i t e n g e f ä ß* mit starken Wänden); ebenso liegt über dem Darm ein Gefäß (*R ü c k e n g e f ä ß*) und unter demselben (*B a u c h g e f ä ß*). Das Bauchgefäß umschließt das *B a u c h m a r k*. Um den Darm herum findet sich ein Netzwerk verknäuelter Gefäße, das man wohl fälschlich als Leber bezeichnet. Es sind Kanäle, die den Namen *b o t h r y o i d e G e f ä ß e* führen. Das Bauchmark erscheint in zwei Strängen (zwischen denen manchmal ein viel feinerer dritter zu sehen ist).

Zu beiden Seiten des Bauchmarks finden sich auf manchen Schnitten Querschnitte der *H o d e n*. Daneben sind die geknäuelten Ausführgänge, sowie die Querschnitte der Samenleiter sichtbar.

48. Dünnschliff vom Basalt.

Die Anfertigung von Dünnschliffen wollen wir zuerst an einem Gestein üben. Wir wählen dazu den *B a s a l t*.

Der Basalt ist ein sehr zusammengesetztes, gemengtes, kristallinisches Gestein, ein feinkörniges Gemenge, dessen Hauptbestandteil Amphibol- und Feldspatminerale bilden, daneben kommen Eisenerze und andere Mineralmassen vor, aber niemals Quarz.

Mit dem Hammer schlagen wir von einem größeren Basaltstück ein möglichst flaches Stückchen ab, das frei von Sprüngen sein muß, sonst würde der Schliff auseinandergehen. Die Scherbe wird auf einer ebenen Gußeisenplatte (Ofenplatte) mit grobem Schmirgel und Wasser auf einer Seite geschliffen. Dabei machen wir weit ausholende kreisende Bewegungen. Wenn eine ebene Fläche erreicht ist, wird diese Anschlifffläche auf einer ebenen Glasplatte mit feinem Schmirgel (Schlämm- oder Mehlschmirgel) und Wasser weitergeschliffen, bis alle Rauigkeit auf der Fläche verschwunden ist.

Das Stück wird getrocknet und mit der geschliffenen Seite auf eine Glasplatte (z. B. einen Objektträger von englischem, besser aber Gießener Format) *a u f g e k l e b t*. Wir kleben mit Kanadabalsam auf, den wir vorher stark erhitzen (im Blechlöffel), wobei wir mit einem Glasstab tüchtig umrühren müssen, damit er nicht anbrennt. Von dem Balsam bringen wir einen großen Tropfen auf das Glas und erwärmen ihn über einer Flamme, bis er wieder dünnflüssig ist. Dann wird er breit gestrichen und das erwärmte Schleifstück hineingedrückt. Es dürfen keine Luftblasen zwischen

Glas und Schleifstück zurückbleiben, sonst entstehen Löcher im Präparat. Wir müssen also so lange von neuem erwärmen und andrücken, bis auch die letzten Spuren Luft verschwunden sind.

Wir schleifen jetzt wieder auf der Eisenplatte, solange der Schliff dabei nicht in Gefahr kommt. Die Hauptsache ist, daß wir gleichmäßig abschleifen, darum müssen wir die Platte immer gleichmäßig aufdrücken. Von Zeit zu Zeit unterbrechen wir das Schleifen und beobachten von der Glasseite. Wenn sich Farbenringe zeigen, hat sich der Schliff etwas losgelöst. Wir spülen dann alle Splitter ab, trocknen und erwärmen, bis die Ringe verschwunden sind. Nach dem Erkalten fahren wir mit dem Schleifen fort, zuletzt auf der Glasplatte. Wir haben unseren Zweck erreicht, wenn wir mittelgroße Druckschrift durch den Schliff lesen können.

Nun spülen wir den Schliff gut ab und lassen ihn trocknen. Ein Objektträger wird gereinigt und mit einem Tropfen gekochten Kanadabalsams versehen. Auf den Schnitt bringen wir ebenfalls einen großen Tropfen und erwärmen mäßig. Der Schliff läßt sich dann mit einem Hölzchen auf den Objektträger schieben. Beim Erwärmen sinkt der Schliff langsam ein. Er wird mit einem Deckglas bedeckt, das vorher etwas erwärmt wurde. Dabei können wir mit einem Hölzchen auf die Mitte des Deckglases drücken.

Wahrscheinlich sind aber Luftblasen zurückgeblieben. Wir erwärmen dann die eine Hälfte des Präparates und streichen mit einem flachen Holzstäbchen den überschüssigen Balsam und die Luftblasen weg. Ist diese Seite wieder fester geworden, machen wir es mit der anderen gerade so und fahren in dieser Weise fort, bis alle Luftblasen verschwunden sind.

Nach dem vollständigen Erkalten kratzen wir mit einem Messer den übergequollenen Balsam ab, wobei wir das Messer stets vom Deckglas weg bewegen. Die letzten Spuren des Balsams wischen wir mit einem mit (gebrauchtem) Xylol befeuchteten Tuche ab.

In dem Präparat finden wir unter dem Mikroskop viele schwarze Stellen, die vollständig undurchsichtig sind. Es ist *Magneteseinstein*. Wir untersuchen sie genauer, wobei wir das Präparat langsam verschieben. Manche Magneteseinstückchen haben die Form unregelmäßiger Körnchen, viele aber bilden Durchschnittsfiguren eines einzelnen oder zusammengesetzten Oktaeders. Oft sind auch farnwedelähnliche Gebilde aneinandergereihter Oktaederchen zu finden.

Weiter finden wir in unserem Präparat farblose Durchschnitte, die von grünen Serpentinrändern umgeben und von ebensolchen oder rotbraunen Adern durchzogen sind. Es sind Kristalle von *Olivin*; die farbigen Bänder rühren vom beginnenden Zerfall her. Oft kann man Olivine finden, die

Magnetitkristalle eingeschlossen haben. Manchmal zeigen sich (bei stärkerer Vergrößerung) runde oder schlauchförmige Flüssigkeitseinschlüsse. Auch Gasporen und Glaseinschlüsse finden sich hin und wieder.

Als weiteren Bestandteil sehen wir im Präparat größere und kleinere durchsichtige, lichtbräunlichgelbe Durchschnitte vom Augit. Er bildet kurzprismatische Kristalle. Oft sind Zwillingsbildungen zu finden. Häufig zeigen die Teile auch Zonenbau, der durch verschiedene Färbung auffällt, dabei zeigen sich oft sogenannte „Sanduhrformen“.

Kleine farblose Teile der Grundmasse unseres Präparates rühren vom Plagioklas her.

49. Herstellung eines Knochenschliffes.

Ein Knochenschliff wird auf ähnliche Weise gewonnen wie ein Schliff von einem Mineral, nur wird man auf groben Schmirgel verzichten können, weil die Knochen viel weniger hart sind als die meisten Gesteine.

Wir benutzen einen alten Knochen, der durch jahrelanges Liegen in Wind und Wetter alle organischen Bestandteile durch Fäulnis verloren hat. Aus ihm schneiden wir mit der Laubsäge dünne Scheiben in der Längs- und Querrichtung aus, die wir weiter schleifen wollen. Wir legen eine Scheibe auf einen angefeuchteten Schleifstein, drücken ihn mit den Fingern fest und führen kreisende Bewegungen mit ihm aus. Wenn die Fläche eben ist, polieren wir sie auf einer matten Glasscheibe.

Nun kleben wir den Schnitt mit erhitztem Balsam in der Weise auf, wie wir es beim Basaltschliff geübt haben, und schleifen die zweite Seite gerade so wie die andere, wobei wir wieder die Vorsichtsmaßregeln beachten müssen, auf die wir beim Basaltschliff kennen lernten.

Man kann den Knochen auch auf einem Bimsstein schleifen, ohne daß er aufgeklebt wird. Ohne große Übung wird man aber keine brauchbaren Ergebnisse erlangen.

Knochenschliffe werden hauptsächlich für das Studium der Hohlräume im Knochen hergestellt. Da Balsam und Knochenschliff das Licht fast gleich stark brechen, so müssen die Hohlräume mit Luft gefüllt sein; der Balsam muß daraus entfernt werden. Wir lösen unseren Schliff mit Xylol vorsichtig los von der Glasplatte, lassen ihn eine Zeitlang in Xylol, bis der Balsam vollständig gelöst ist. Dann waschen wir ihn noch mit absolutem Alkohol und lassen ihn trocknen.

Zur Untersuchung bringen wir ihn in einen Wassertropfen und beobachten sofort (vgl. S. 83). Nur langsam dringt das Wasser ein.

Um auch einen Schliff als Dauerpräparat zu erlangen, verwenden wir

Balsam, den wir tüchtig gekocht haben, so daß er beim Erkalten vollständig hart ist. Er darf aber nicht anbrennen, da sich sonst störender Ruß darin absetzt, auch darf er nicht braun werden.

Ein großer Tropfen davon kommt auf den Objektträger, auf dem wir ihn erhärten lassen. Vor dem Einschließen des Schliffes erwärmen wir ihn vorsichtig, bis er eben flüssig wird, dann legen wir den Schliff hinein, achten darauf, daß auch Balsam an die Oberseite des Schliffes kommt, und decken mit einem Deckglas zu, das vorher erwärmt wurde. Luftblasen können meist auf dieselbe Weise wie bei dem Basaltschliff entfernt werden.

Zweiter Teil.

Systematische Uebersicht.

1. Das Mikroskop.

1. Mechanische Einrichtung des Mikroskops: Stativ S. 9, Tubus S. 9, 69, Objektisch S. 9, Blendvorrichtungen S. 9, Irisblende S. 9, 67, Spiegel S. 9, Beleuchtungsapparat S. 67, Okular S. 10, Objektiv S. 10, 68, Immersionssysteme S. 68, Kondensor S. 67, Revolver S. 69.

2. Behandlung des Mikroskops:

a) Das Mikroskop ist sofort nach seinem Gebrauch in seinen Schrank zurückzustellen, um es vor Staub zu schützen.

b) Es darf nur am Stativ gefaßt werden, nicht etwa am Tubus oder an irgend einer Schraube.

c) Vorsicht ist geboten beim Gebrauch von Säuren und ätzenden Flüssigkeiten.

d) Räume, in denen schädliche Gase entwickelt werden, dürfen nicht zum Aufbewahren des Mikroskops dienen.

e) Alle Teile, besonders die Linsen, sind mit reinem, weichem Lappen stets gut zu reinigen.

f) Objektive dürfen nicht auseinandergeschraubt werden;

g) sie dürfen auch nicht zu Boden fallen.

3. Aufstellung des Mikroskops S. 9: Der Tisch, auf dem genügend Platz ist, soll höchstens 1 m vom Fenster entfernt stehen. Direktes Sonnenlicht muß vermieden werden.

Bei künstlichem Licht sind Blendgläser anzuwenden S. 67. Statt dessen kann man die Lichtstrahlen auch durch eine mit verdünnter Kupferoxydammoniaklösung (S. 22) gefüllte Schusterkugel hindurchgehen lassen.

Von besonderen Mikroskopierlampen ist die von A. Mayer (Fig. 33) die geeignetste¹⁾. Die Strahlen einer kleinen Glühlampe werden

¹⁾ Verfertiger: W. u. H. Seibert in Wetzlar.

von dem Brennpunkt eines parabolischen Spiegels *P* auf diesen geworfen. Von dem Spiegel kehrt es annähernd parallel zurück und fällt auf eine matte Glasscheibe (*M*), die ein sehr feines Korn besitzt. Sie läßt einen Teil

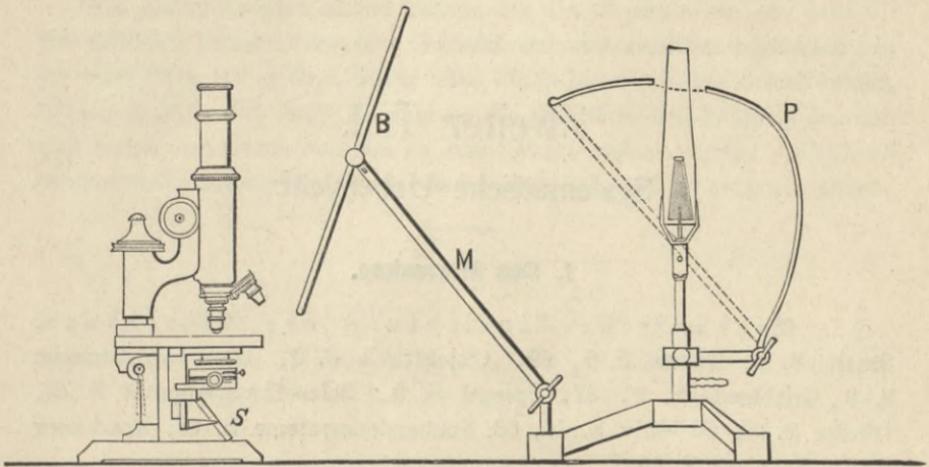


Fig. 33. Mikroskopierlampe.

ungehindert hindurch, den anderen zerstreut sie. Ein Schirm (*B*) schützt die Augen vor direktem Licht.

4. Einstellen des Mikroskops S. 11 ff.: Durch Zahn und Trieb S. 69, Immersionssystem S. 68 f., Revolver S. 69.

5. Betrachtung mikroskopischer Präparate S. 12, 14.

2. Utensilien zur Fertigstellung der Präparate.

1. Objektträger S. 10, Reinigen S. 10, 96.
2. Deckgläser S. 10, Reinigen S. 10, 65.
3. Schutzleisten S. 13, 32, Wachsfüßchen S. 13.

3. Instrumente zur Herstellung von Präparaten.

1. Rasiermesser S. 29 ff.
2. Abzugstein und Streichriemen S. 29 f. Vorteilhaft ist ein Zimmerscherchinesischer Streichriemen, dessen vier Seiten von verschiedenem Material sind.
3. Mikrotome S. 77 ff., Messer S. 80. Zu der neuen Form des Studentenmikrotoms liefert Jung Messer, die mit einem kurzen Stiel versehen sind. Das Mikrotom ist so eingerichtet, daß das Messer neben der Querstellung (Fig. 27) auch eine Längsstellung erhalten

kann (Fig. 34). Bei den Objekten, die mit ziehendem Messer geschnitten werden sollen, wird der Objekthalterträger *g* mit seitlicher Gabel verwendet. Als Objekthalter dienen *K C*, *K B* oder *i*. Erforderlich ist ein schräg gestelltes Messer für Zelloidinpräparate, für die der Halter *i* bestimmt ist. Große Zelloidinpräparate müssen unter Alkohol geschnitten werden. Bei den kleinen Präparaten, die für dieses Mikrotom in Betracht kommen, genügt es, wenn der Schnitt andauernd mit Alkohol befeuchtet wird. Darum besitzt der Halter ein Alkoholgefäß, das dieses Befeuchten sehr erleichtert (Fig. 34). Auch können die Schnitte vorläufig von dem Gefäß aufgenommen werden. — Zelloidin ist nur für sehr große Schnitte vielleicht nötig und allenfalls für solche, die leicht schrumpfen. Das

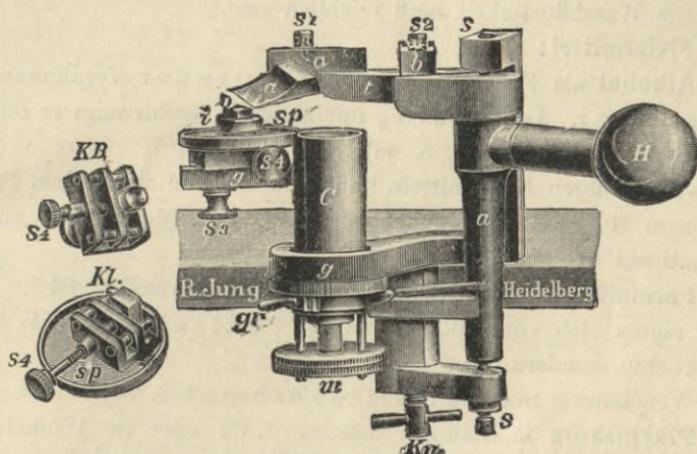


Fig. 34. Mikrotom mit Vorrichtung zum Schneiden von Zelloidinpräparaten.

Einbetten, Schneiden und Behandeln der Schnitte dauert viel länger als beim Paraffin, erfordert auch bedeutend mehr Aufmerksamkeit und Geschicklichkeit. Es kann daher die Zelloidinmethode (für unsere Zwecke) nicht empfohlen werden.

Schneiden mit dem Mikrotom S. 80 f.

Gefriermikrotom S. 87 ff.: Äthergefrierapparat S. 87, Äthylchloridkammer S. 87 f., Gefrieren mit Kohlensäure S. 87 f.

Schneiden der Paraffinpräparate S. 92 ff.

Bänderschneiden S. 95 ff.

4. Fixieren und Härten.

A. Zweck S. 47 f.

B. Regeln für das Fixieren: a) Sorge dafür, daß der Zustand fixiert wird, der untersucht werden soll.

b) Sorge für schnelles Eindringen des Fixiermittels dadurch, daß

α) das Objekt in möglichst kleine Stücke zerlegt wird,

β) in größere Objekte Öffnungen gemacht werden.

c) Wenn angängig, ist das Fixiermittel vor oder nach dem Einlegen des Objektes zu erwärmen, da die Hitze das Eindringen sehr erleichtert.

d) Die Menge des Fixiermittels muß die des Objektes um ein Vielfaches übertreffen.

e) Die Fixiermittel sollen nicht länger einwirken, bis sie ihren Zweck erreicht haben.

f) Das Fixiermittel muß stets ausgewaschen werden.

g) Die Waschflüssigkeit muß reichlich sein.

C. Fixiermittel:

1. **Alkohol** als Fixiermittel geeignet in großer Verdünnung oder als absoluter. In Verbindung mit anderen beschleunigt er oft deren Eindringen (mit Pikrinsäure, S. 48).

Nach anderen Fixiermitteln kann Alkohol von steigendem Prozentgehalt zum Härten verwendet werden S. 85. Meist kann man mit 70prozentigem beginnen.

2. **Formaldehyd** (Methylaldehyd, Formalin, Formol) S. 84 f.

Es eignet sich vorzüglich als Härtemittel, macht die Gewebe nicht brüchig, sondern elastisch.

In Verbindung mit Kaliumbichromat S. 90.

3. **Pikrinsäure** in wäßriger Lösung S. 82 oder in Alkohol S. 48. Pikrinsäure ist auch ein Plasmafärbstoff.

4. **Essigsäure**, 0,2—1 % insbesondere für Zellkerne S. 82. Sie schädigt das Plasma und wird daher meist nur in Verbindung mit dem Farbstoff oder kurz vor dem Färben angewendet. Vielfach in Verbindung mit anderen Stoffen.

5. **Quecksilberchlorid** (Sublimat). Kann allein verwendet werden; besser mit Essigsäure S. 82 und 101.

Verhalten zu Metallen S. 82.

6. **Kaliumbichromat**. Vorzügliches Härtemittel. Macht nicht spröde und verändert die Gewebe nicht. Stärke 2—5 %, allmähliche Steigerung S. 88.

Als Fixiermittel nur in Verbindungen:

a) mit Essigsäure: Kaliumbichromat 3 g, Essigsäure 5 ccm, Wasser 100 ccm. Zeitdauer einen bis mehrere Tage, je nach der Größe des Objektes. Auswaschen mit Wasser; schwacher, dann stärkerer Alkohol;

b) mit Formol S. 90.

Tabelle zum Verdünnen des Alkohols.

Gewünschte Stärke in Proz.	Spez. Gewicht bei 150 C	Ursprüngliche Stärke in Prozenten												
		95	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35
		0,816	0,833	0,849	0,863	0,877	0,889	0,901	0,913	0,928	0,943	0,943	0,951	0,958
90	0,833	6,50												
85	0,849	13,36	6,56											
80	0,863	20,16	13,79	6,83										
75	0,877	29,66	21,89	14,48	7,20									
70	0,889	39,16	31,05	23,14	15,35	7,64								
65	0,901	50,66	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15							
60	0,913	63,16	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	6,76						
55	0,928	78,36	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47					
50	0,934	96,36	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35				
45	0,943	117,86	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,41			
40	0,951	144,86	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55	12,8		
35	0,958	178,86	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	58,31	43,59	27,6	14,3	
30	0,965	224,4	206,22	186,6	171,1	154,3	136,04	118,9	101,7	84,5	67,5	50,6	33,4	16,8

Anmerkung: Die Angaben beziehen sich auf Raunteile.

Beispiel: Um Alkohol von 50 % zu erhalten (Tabelle links) muß man zu 100 ccm Alkohol von 95 % (Tabelle oben) etwa $96\frac{1}{3}$ ccm Wasser setzen (Durchkreuzungsstelle der Reihen), zu 100 ccm von 75 % aber nur $52\frac{1}{2}$ ccm Wasser.

7. **Chromsäure** S. 64. Da sie nicht leicht eindringt, wird sie gewöhnlich in Verbindung mit anderen Mitteln gebraucht, mit Essigsäure S. 95, mit Osmiumsäure s. u. Zum Härten wird sie 0,2—0,5 % stark verwendet. Wenn die richtige Härte erreicht ist, 1—2 Tage, auswaschen in Wasser, aufbewahren in Alkohol (90 %).

8. **Osmiumsäure**, sehr teuer, zersetzt sich leicht, giftig; als Fixiermittel unübertroffen. Anwendung meist in Gemischen:

Flemmingsche Lösung (Osmium-Chrom-Essigsäure). Für Kerne und Protoplasmastrukturen sehr gut (Zellteilung!).

Osmiumsäure 1 %	10 ccm,
Chromsäure 1 %	25 ccm,
Essigsäure 2 %	5 ccm,
Destilliertes Wasser	60 ccm.

Sehr tüchtig in Wasser auszuwaschen. Osmiumsäure dringt sehr langsam ein.

5. Mazerieren.

A. **Wesen** und **Zweck** S. 59.

B. **Mittel:**

1. **Alkohol** als Ranvierscher Drittelalkohol S. 60, 64.
2. **Kochsalz** in 10prozentiger Lösung.
3. **Kaliumbichromat** in sehr verdünnter Lösung (0,01—0,1 %) S. 64.
4. **Salpetersäure:** 20 %. In Verbindung mit Kaliumchlorat (für Muskeln) S. 62, als Schulzes Verfahren S. 59.
5. **Chromsäure** S. 63. Verdünnung gewöhnlich 1:5000.
6. Andere **Säuren** (Schwefelsäure, Essigsäure, Borsäure u. a.).
7. **Kali-** oder **Natronlauge** in sehr starker Lösung. Bei der Herstellung von Dauerpräparaten muß zuvor mit Essigsäure neutralisiert werden.

6. Entkalken.

Salzsäure mit Kochsalz S. 83.

Salpetersäure: Für große und zähe Knochen Verdünnung mit Wasser 1:10, für junge 1: bis 100. Vorbehandlung 3 Tage 95prozentiger Alkohol. Auswaschen mit Wasser mit Alaunzusatz.

7. Entkieseln.

Fluornatrium mit Zusatz von Salzsäure. Das Glas muß mit Paraffin ausgekleidet sein.

8. Bleichen.

1. Kaliumhypochlorit (Eau de Javelle) S. 26, 52. Statt dessen Eau de Labarraque.

2. Freies Chlor: Einige Kristalle Kaliumchlorat werden mit 2—3 Tropfen Salzsäure bedeckt. Wenn sich das Gas bildet, werden einige Kubikzentimeter Alkohol von 50—70 % hinzugefügt. Dann werden die

Objekte aus 70—90prozentigem Alkohol hinzugegeben, die zuerst schwimmen, dann aber untersinken. Nach 30 Minuten kann der Erfolg erreicht sein, der aber auch einige Tage auf sich warten lassen kann.

9. Durchtränkung.

A. zum Zweck des Einschlusses in Balsam.

1. Intermedien Xylol S. 41.

2. Verfahren S. 42.

B. zum Zweck des Einbettens in Paraffin.

1. Intermedien: Benzol S. 90, Zedernöl S. 91.

2. Verfahren S. 90.

C. zum Zweck des Einbettens in Zelloidin.

1. Intermedien: Mischung von Alkohol und Äther, nachdem sehr sorgfältig entwässert ist.

2. Verfahren: einfaches Übertragen in das Intermedium, dann Zelloidinbad (2 % Zelloidin in Alkoholäther gelöst), bis das Objekt vollständig durchtränkt ist. Zeitdauer: für kleine Objekte Tage, für größere Wochen, Monate. Das käufliche Zelloidin schneidet man vor dem Gebrauch in kleine Späne, die man an der Luft trocknen läßt, bis sie gelb und hornig geworden sind, damit das Wasser entfernt wird.

10. Einbetten.

A. in Paraffin S. 91.

B. in Zelloidin: Nach der Durchtränkung: Zelloidinbad aus 10 % Zelloidin in Alkoholäther. Als Gefäße zum Einbetten: Papierkästchen S. 92 oder besser flache Gläser, die vollständig trocken sind. Beim vorsichtigen Hineinfüllen dürfen keine Luftblasen entstehen. Dann kommen die Gefäße unter eine Glasglocke, die so aufgestellt wird, daß wenig Luft zutreten kann, damit Alkohol und Äther langsam verdunsten. Wenn nach einigen Tagen das Objekt herausieht, wird eine Schicht dicker Lösung nachgefüllt. Ob das vorläufige Härten beendet ist, sieht man daran, daß die Fingerbeere auf der Masse keinen Eindruck hinterläßt.

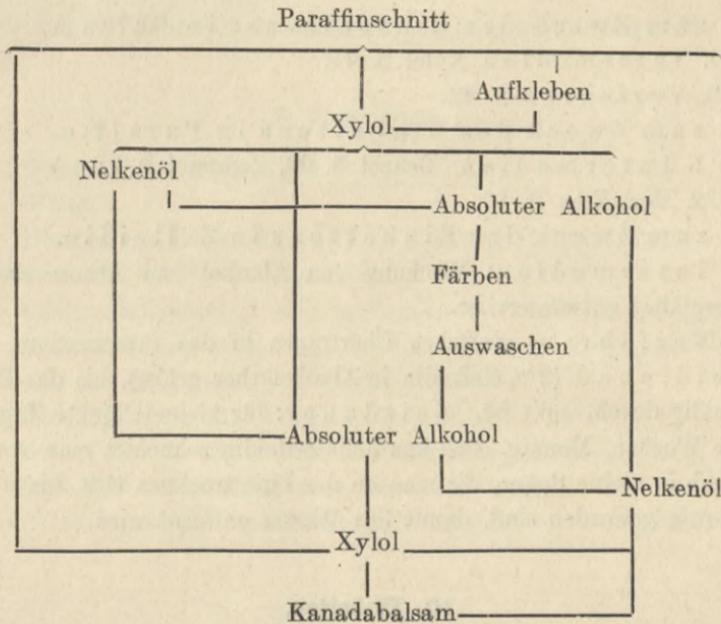
Endgültiges Härten: Nach dem vorläufigen Härten wird der Block, der das Objekt enthält, ausgestochen und in Chloroform gebracht. Bei kleinen Blöcken ist schon nach einigen Stunden die richtige Härte erreicht. Auch kann in Alkohol von 85 % gehärtet werden, was aber verhältnismäßig mehr Zeit erfordert.

Zu A und B: Über Schneiden siehe unter den Instrumenten.

11. Weiterbehandlung der Schnitte.

- A. Paraffinschnitte:** 1. Lose Schnitte S. 94, 2. Aufkleben S. 96 f.,
3. Auflösen des Paraffins S. 94, 97, 4. Einschließen S. 94 f.

Schema für die **Weiterbehandlung der Paraffinschnitte:**



B. Zelloidinschnitte: Aufkleben mit Eiweiß S. 97, müssen aber fest aufgedrückt werden.

Die meisten Methoden sind sehr umständlich. Einfacher, wenn auch nicht absolut sicher, ist es, die Schnitte 2 Minuten in 95prozentigen Alkohol zu bringen, auf den Objektträger zu übertragen und darauf Ätherdämpfe einwirken zu lassen.

Färben: Das Zelloidin wird vor dem Färben nicht aufgelöst, da es sich gar nicht oder nur wenig mitfärbt. Ist dieses doch einmal der Fall, muß es mit absolutem Alkohol entfernt werden.

Einschließen der Schnitte: Das Zelloidin bleibt in dem Schnitt. a) Einschließen in Glycerin vom Alkohol aus. b) Einschließen in Balsam: Entwässern in 95prozentigem Alkohol, Intermedium: Zedernöl oder Bergamottöl.

12. Färben.

A. Arten der Färbungen S. 48, diffuse und elektive. Kernfärbung und Protoplasmafärbung, je nachdem, ob bei der elektiven Färbung nur die Kerne oder nur Teile des Plasmas (und auch der Wände) oder doch hervorragend gefärbt sind.

B. Methoden.

a) Progressive Färbung: im ersten Teile unter dem Deckglas ausgeführt S. 62.

b) Regressive Färbung: Überfärben und teilweise entfärben (S. 34). Aber auch alle Färbungen, bei denen ausgewaschen werden muß, gehören hierher.

c) Schnittfärbung: α) frische Schnitte S. 82 u. a.; β) lose Paraffinschnitte S. 94; γ) aufgeklebte Paraffinschnitte S. 98; δ) Zelloidinschnitte S. 114.

d) Stückfärbung (Färbung in toto) S. 101.

e) Mehrfachfärbung: α) Farben nacheinander S. 98; β) Farbungemische 45; γ) Stückfärbung und Nachfärbung des Schnittes S. 102.

f) Lebendfärbung kleiner Wassertiere (besonders des Planktons). Dem Wasser wird eine geringe Menge des Farbstoffs zugesetzt, so daß es eben den Farbton aufweist (Verhältnis etwa 1:100000). Geeignete Farbstoffe sind Methylenblau und Neutralrot. Man muß zu verschiedenen Zeiten Tiere aus der Flüssigkeit unter das Mikroskop bringen; denn die Färbungen treten in verschiedenen Teilen verschieden auf und verschwinden auch wieder. Es kommen also keine echten Färbungen zu stande.

C. Farbstoffe.

1. **Hämatoxilin** nach Delafield S. 85, 63, 85 f., 94. Färbt sowohl die Membranen wie die Eiweißstoffe der Gewebe in gut differenzierender Weise. Zuerst Kerne, dann Plasma. Herstellung: 1. Lösung: 4 Teile Hämatoxilin in 25 Teilen Alkohol. 2. Lösung: 400 Teile konzentrierte wäßrige Lösung von Ammonalaun. Mischen von 1 und 2 und Stehenlassen an der Luft. Nach 4 Tagen wird filtriert und 100 Teile Glycerin und 100 Teile Methylalkohol zugesetzt. Nach einigen Tagen wird filtriert und die Flasche verschlossen.

2. **Hämalaun** nach P. Mayer. In 1 l destilliertem Wasser wird 1 g Hämatoxilin gelöst, dann werden 0,2 g Natriumjodat und 50 g Alaun hinzugefügt. Nachdem sich die Salze bei gewöhnlicher Temperatur aufgelöst haben, ist der Farbstoff zum Gebrauch fertig. Es färbt schnell;

Überfärbung hat man kaum zu fürchten. Ausgewaschen wird mit Alaunwasser (1—2 % Alaun in Wasser). Danach muß man mit Leitungswasser den Alaun auswaschen, da er sonst störende Kristalle bildet; gleichzeitig bildet sich die schöne blaue Farbe. Zumeist erreicht man Kernfärbung.

3. **Pikrokarmin** S. 61, 62, 88, 95. Färbt Schnitte rasch, kann auch zur Stückfärbung benutzt werden. (Es ist aber nur das P. M a y e r s c h e Pikromagnesierkarmin brauchbar S. 61.)

4. **Boraxkarmin** S. 40, 84. Exakte Chromatinfärbung.

5. **Alaunkarmin** S. 101. Färbt nur die Kerne; auch bei langer Anwendung keine diffuse Färbung. Schnitt- und Stückfärbung. Nachherige Färbung des Plasmas S. 102.

6. **Indigokarmin** S. 102. Färbt diffus, nur geeignet zum Nachfärben der mit Karmin vorgefärbten Objekte, wobei es dann das Plasma färbt.

7. **Safranin** S. 82, 98. Kernfärbmittel.

8. **Methylgrün** S. 44. Kernfärbmittel. Es hat vor Safranin den Vorzug, daß es mit roten Farbstoffen (z. B. Eosin, Fuchsin S) zu Doppelfärbungen verwendet werden kann.

9. **Gentianaviolett** S. 98. Färbt ähnlich wie Safranin. Geeignet zu Doppelfärbungen mit roten oder gelben Plasmafarbstoffen.

10. **Pikrinsäure**. Protoplasmastoff, nach den Kernfarbstoffen anwendbar, besonders nach Karmin und Hämatoxin S. 48.

11. **Orange** S. 98. Dient als Plasmafarbstoff nur zum Nachfärben.

12. **Säurefuchsin** S. 45, 82. Der beste Plasmafarbstoff. Bakterienfärbung S. 66, 72.

13. **Karbofuchsin** S. 74. Bakterienfärbung.

14. **Eosin** S. 48, 65. Färbt diffus, daher meist nur als zweite Farbe nach der Kernfärbung.

15. **Methylenblau**. Dient besonders zum Färben der Nerven und verwandten Elementen statt der Metallinjektionen. Es ist nicht nötig, die Farblösung lebenden Tieren einzuspritzen, da die Reaktion gerade so gut eintritt, wenn das betreffende Organ in die Farblösung gebracht wird. Herstellung der Lösung: $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$ %. Methylenblau in $\frac{3}{4}$ prozentiger Kochsalzlösung.

So kann Methylenblau die

16. **Silberimprägnation** S. 88 f. ersetzen.

17. **Alkannin** färbt Fette.

13. Reagenzien.

Die Reagenzien sollen entweder das Präparat für die Beobachtung tauglicher machen, insbesondere dadurch, daß es durchsichtiger wird: **Aufhellungsmittel**, oder sie sollen zur Sichtbarmachung oder zum Nachweis bestimmter Teile des Präparates dienen: **eigentliche Reagenzien**.

Die **Aufhellungsmittel** sind entweder **physikalische Aufhellungsmittel**, die durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen die schwächer brechenden Präparate hervortreten lassen, oder sie wirken **chemisch**, indem sie einzelne Teile wegschaffen, um andere desto deutlicher hervortreten zu lassen.

Physikalische Aufhellungsmittel.

Glyzerin S. 25.

Kanadabalsam S. 70.

Brechungsexponenten verschiedener Stoffe, nach der Größe der Exponenten geordnet:

Luft	1,000	Chloroform	1,449
Methylalkohol	1,330	Bergamottöl	1,464
Dest. Wasser	1,332	Paraffin	1,471
Seewasser	1,343	Olivenöl	1,473
Eiweißlösung	1,350	Terpentinöl	1,473
Äthyläther	1,357	Glyzerin, wasserfrei	1,473
Alkohol, abs.	1,363	Rizinusöl	1,481
Essigsäure	1,372	Toluol	1,496
Xylol, o	1,497	Karbolsäure (Phenol)	1,550
Benzol	1,501	Anisöl	1,557
Zedernöl	1,510	Zimtöl	1,567
Gummi arab.	1,514	Anilin	1,586
Crownglas	1,518	Schwefelkohlenstoff	1,628
Zedernöl, eingedickt	1,520	Schwefel in Schwefelkohlen-	
Dammarharz	1,520	stoff	1,644
Zitronenöl	1,527	Monobromnaphthalin	1,661
Nelkenöl	1,528—1,538	Methylenjodid	1,743
Kanadabalsam	1,535	Phosphor	2,073
Kreosot	1,538	Diamant	2,470
Kolophonium	1,545		

Brechungsexponenten wäßriger Lösungen (bei einer Wärme von rund 20°):

	Prozentgehalt	Dichte	Brechungsexponent
Kalilauge	18,50	1,204	1,380
„	34,74	1,376	1,413
Schwefelsäure	88,97	1,819	1,467
„	71,97	1,634	1,427
„	30,10	1,227	1,370
„	4,46	1,0298	1,339
Alkohol	98,8	0,789	1,360
„	38,8	0,932	1,356
Glyzerin	90,0	1,234	1,457
„	80,0	1,207	1,442
„	70,0	1,180	1,427
„	60,0	1,153	1,412
„	50,0	1,125	1,397
Fuchsin in alkohol. Lösung	1,9		1,376
„ „ „ „	15,5		1,372

Chemische Aufhellungsmittel.

1. Kaliumhydroxyd (Kalilauge) oder Natriumhydroxyd (Natronlauge) S. 20, 38, 82.

2. Eau de Javelle oder Eau de Labarraque S. 26, 52.
Vorzügliche Aufhellungsmittel.

3. Chloralhydrat S. 25. Nicht so sicher wie Eau de Javelle, für zarte Objekte zu empfehlen.

4. Essigsäure S. 24. Insbesondere bei tierischen Objekten verwendbar. (Darstellung von Bindegeweben, Muskelfasern, Nervenendigungen, Zellkernen usw.).

Die eigentlichen Reagenzien.

1. Äther löst Fette.

2. Alkohol, abs., löst ätherische Öle und Harze.

3. Jodlösung. Reagens auf Stärke S. 20, Eiweiß S. 40, 44.

4. Jodjodkalium. Reagens auf Stärke S. 20, 70, 101.

5. Chlorzinkjod. Reagens auf Zellulose S. 34, 38, 58, 60, 72.

6. Kupferoxydammoniak (Schweizers Reagens).

Reagens auf Zellulose bei Papier und Textilstoffen S. 22.

7. Naphthol. Reagens auf Zucker. Tränken mit einem Tropfen konzentrierter alkoholischer Lösung, Zufügen verdünnter Schwefelsäure. Braun- bis Schwarzfärbung. (Für alle Zucker.)

8. Phlorogluzin. Reagens auf Holzstoffe S. 54, 58.

9. Essigsäure, Salzsäure S. 29, 33.

10. Alkannatinktur. Reagens auf Fette S. 25, auf Kork S. 38.

11. Methylgrün färbt in frischen Geweben im Kern nur das Chromatin.

12. Ferrozyankalium und Salzsäure: Eisen.

14. Einschlußmittel.

1. Trocken (d. h. in Luft) können untersucht und eingeschlossen werden: Säugetierhaare, Vogelfedern, Insektenflügel und -schuppen, nicht hygroskopische Kristalle.

2. **Destilliertes Wasser.** Es muß mit der Luft in Verbindung stehen, aber vor dem Verstauben geschützt sein. Durch den Kork führt man daher eine zweimal rechtwinklig gebogene Glasröhre. Es ist nicht indifferent S. 24.

3. **Physiologische Kochsalzlösung** S. 80.

4. **Zuckersaft.** Zucker wird im gleichen Gewicht Wasser heiß gelöst, gegen das Schimmeln wird 1 % Karbolsäure zugefügt. Geeignet für Dauerpräparate, doch kristallisiert der Zucker leicht aus.

5. **Gemisch von Apáthy.** Gummi, Zucker und lprozentige Formolösung zu gleichen Gewichtsteilen. Zum Einschließen und Umrahmen (z. B. von Glycerinpräparaten).

6. **Glycerin,** konzentriert oder verdünnt, je nach dem gewünschten Brechungsvermögen S. 118. Sicherster Einschluß in konzentriertem Glycerin.

7. **Glycerin-Gelatine** (nach Kaiser). 7 g Gelatine werden 2 Stunden in 42 g destilliertem Wasser eingeweicht. Dann werden 50 g Glycerin und 1 g Karbolsäure zugefügt. Unter Umrühren ist 10—15 Minuten zu erhitzen, dann heiß zu filtrieren. Am besten fertig zu beziehen, da sie nicht leicht klar zu bekommen ist. Für den Gebrauch hält man sich einen kleinen Teil im Reagenzglas, das durch einen Wattepfropfen verschlossen wird. Über der Spirituslampe wird die Masse verflüssigt, und es kann mit dem Glasstab ein Tropfen auf den etwas angewärmten Objektträger gebracht werden. (Es wird auch empfohlen, ein kleines Würfelchen auf dem Objektträger zu verflüssigen; dabei entstehen aber in der Regel sehr viel Luft-

blasen, die sich schwer entfernen lassen.) Die Anwendung ist bequemer als die bei Glyzerin (vgl. S. 36 f.) und bei Balsam (vgl. S. 41 f.). An Güte steht das Mittel dem reinen Glyzerin nach.

8. **Kanadabalsam** S. 40 f.

9. **Terpentin** S. 43.

10. **Kolophonium**. In warmem Terpentinöl wird so viel recht helles Kolophonium gelöst, daß die Lösung die gewünschte Dicke erhält. Filtrieren. Sehr gutes Einschlußmittel für Dauerpräparate (doch nicht für Hämatoxilin-färbungen).

11. **Zedernöl** (siehe Brechungsexponent S. 117). Für Dauerpräparate gut geeignet.

12. **Holzessig** (Acetum pyrolignosum rectificatum Ph. G. IV der Apotheken). Gutes Einschlußmittel für Wasserorganismen, besonders für Algen und Protozoen.

15. Dauerpräparate.

1. In flüssigen Mitteln. Herstellung S. 35. Mittel (vgl. S. 119 f.). Wachszellen S. 36. Kitte und Firnisse: Asphaltlack, Bernsteinlack S. 36. Kanadabalsam S. 120. Gemisch von Apáthi S. 119.

2. In festen Mitteln: Kanadabalsam (S. 40 f.). Terpentin S. 43. Kolophonium S. 120. Zedernöl S. 120; kann auch umrahmt werden, da es nur langsam fest wird.

Glyzerin-Gelatine S. 119. Wird am besten umrahmt.

Aufbewahren der Dauerpräparate.

Das richtig etikettierte Präparat muß vor Licht und Staub geschützt (am besten wagerecht) aufbewahrt werden. Dafür sind verschiedene Mappen, Kästen und Schränke hergestellt, vgl. die Abbildungen.

In jedem Vierteljahr müssen die Präparate mit einem Pinsel abgestaubt werden.

Jedes Jahr muß man ein- bis zweimal mit der Lupe die Umrahmung untersuchen, ob sie gesprungen ist, um den Schaden beseitigen zu können, falls es noch möglich ist.

16. Kultivieren von Mikroorganismen.

Kultivieren der Bakterien S. 75 ff.

Statt Nähragar findet Nährgelatine vielfach Verwendung:

Nährgelatine:

500 ccm Wasser,
6 g Pepton Witte,
4 g Fleischextrakt,
1 g Kochsalz,
50 g Gelatine.

Nährgelatine mit Dextrose:

500 ccm Wasser,
6 g Pepton Witte,
4 g Fleischextrakt,
1 g Kochsalz,
5 g Dextrose,
50 g Gelatine.

Gelatine verträgt die Erhitzung über 100° nicht. Öfteres Erhitzen macht sie dünnflüssig. Sie muß schwach alkalisch reagieren, was man gegebenenfalls durch Zusatz von Sodalösung erreicht.

Algen werden in dem Wasser gehalten, in dem sie lebten; in diffusum Licht.

Nährlösung für sie (Knopsche Nährlösung): 1. 20,5 g Magnesiumsulfat ($MgSO_4$) in Wasser zu 350 g gelöst; 2. 40 g Kalziumnitrat [$Ca(NO_3)_2$] + 10 g Kaliumnitrat (KNO_3) + 10 g saures Kaliumphosphat (H_2KPO_4) zu 350 g in Wasser gelöst.

Von 1 und 2 je 100 ccm zu 9,8 l Wasser gegeben, bilden eine 0,2prozentige Lösung der wasserfreien Salze.

17. Töten und Betäuben eines kleineren Tieres zwecks Präparation.

A. Töten.

1. **Hitze.** Kleine Objekte werden in einigen Sekunden in Wasser von 90° getötet. Sehr kleine kann man in einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger oder im Uhrglas erhitzen. Nach dem Töten härten, z. B. in Alkohol.

2. **Quecksilberchlorid** S. 101.

B. Betäuben.

1. **Chloroform.** Man läßt ein Uhrglas mit Chloroform auf dem Wasser schwimmen, deckt eine Glocke darüber oder schließt das Glas durch eine Glasplatte. Töten mit Sublimat.

2. **Äther.** Anwendung wie Chloroform.

3. **Kohlensäure.** Man schüttet eine Flasche künstliches Selterswasser zu dem Wasser, in dem die Tiere leben.

18. Untersuchung lebender Organismen.

1. Im hängenden Tropfen S. 72.

2. Mit Hilfe von Wachsfüßen S. 13. Das Deckglas kann so weit hinabgedrückt werden, daß das Tier festgehalten wird. Muß das Wasser stets erneuert werden, läßt man aus einem höher gestellten Glas durch einen Baumwollfaden (oder durch Fließpapier) Wasser zufließen und saugt es auf der anderen Seite durch eine gleiche Vorrichtung ab.

3. Zellen aus Vaseline oder Paraffin. Lebensfrische Organe.

Untersuchung in der natürlichen Flüssigkeit, die sie während des Lebens umgibt, oder in physiologischer Kochsalzlösung S. 80.

BIBLIOTEKA POLITECHNICZNA
KRAKÓW

S - 96

S. 61

DRUCK DER
UNION DEUTSCHE VERLAGSGESELLSCHAFT
IN STUTTGART

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



100000294350