

(AUS DEM ANATOMISCHEN INSTITUTE DER DEUTSCHEN UNIVERSITÄT IN PRAG.)

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER
VITALE FÄRBUNG.

VON
ALFRED FISCHEL,
PRAG.

Mit 65 Figuren auf den Tafeln XXXVIII/XLIII.

(MIT UNTERSTÜTZUNG DER „GESELLSCH. ZUR FÖRDERUNG DEUTSCHER
WISSENSCHAFT, KUNST UND LITTERATUR IN BÖHMEN.“)

Vor zwei Jahren habe ich gelegentlich eines Aufenthaltes in der zoologischen Station in Neapel auf Grund einer bestimmten Fragestellung die Eier einiger Seetiere, namentlich aber diejenigen von *Echinus microtuberculatus*, während ihrer Entwicklung mit verschiedenen Farbstoffen „vital“ zu färben gesucht.

Damals gelang es mir, wie ich im 37. Hefte dieser Zeitschrift berichtete, auf die angegebene Weise eine besondere Art von Körnchen innerhalb der lebenden Eizelle färberisch zu differenzieren, ihre allmähliche Verteilung auf die aus der Eizelle entstandenen Zellen der Larven zu verfolgen, namentlich aber höchst eigenartige, mit den einzelnen Phasen der Zellteilung in Beziehung stehende Lageveränderungen derselben, deren nähere Ursachen mechanisch begreiflich zu machen jüngst Rhumbler versucht hat, zu ermitteln.

Allein eine prinzipiell wichtige Frage konnte ich mit Sicherheit nicht entscheiden: Diejenige nämlich, ob die dargestellten Körnchen nur dem Protoplasma der Zellen beigemengte Fremdkörper, z. B. noch aus dem Ovarium stammende Nahrungsstoffe, oder aber eine besondere Art des lebenden Protoplasmas selbst darstellen. — Es ist aber ohne weiteres einleuchtend, dass die strikte Beantwortung gerade dieser Frage von besonderer, das den übrigen Untersuchungsergebnissen zukommende Interesse weit überragender Wichtigkeit ist.

War diese Entscheidung an dem erwähnten Untersuchungsobjekte nicht möglich, so lag der Wunsch nahe, sie an einem

anderen, für diesen Zweck vielleicht günstigeren Materiale zu versuchen, zu prüfen, ob man überhaupt imstande ist, lebendes Protoplasma in der tierischen Zelle zu färben, und auf diese Weise die Bedeutung dessen zu ermitteln, was man — ohne darüber sicher orientiert zu sein — als „vitale Färbung“ zu bezeichnen pflegt.

Noch aus einem anderen Grunde aber schien eine solche systematisch angestellte Untersuchung nicht unwichtig zu sein und erhielt sie zugleich neue Ziele.

Vor 40 Jahren hat E. Brücke die Zelle treffend als „Elementarorganismus“¹⁾ bezeichnet; wenn er damals hinzufügte, dass sie „einen höchst kunstvollen Bau darstellt, dessen wesentliche architektonische Elemente unseren Blicken bis jetzt vollständig entzogen sind“, so gilt dieser Satz auch noch heute. Denn trotz der grossen, kaum noch übersehbaren Zahl darauf hin gerichteter Untersuchungen und trotz zahlloser, seitdem ermittelter Einzelthatsachen, steht uns auch gegenwärtig noch der feinere strukturelle Aufbau des Protoplasmas völlig rätselhaft gegenüber. Ist für die einen das letzte Strukturelement der plasmatische Faden, so ist es für die anderen die Wabe und für die dritten das Granulum, die Plastidule (Maggi); und damit sind nur die Typen der verschiedenen Anschauungen charakterisiert — in ihren speziellen Ansichten weichen die Anhänger der einen oder der anderen dieser Hypothesen, namentlich die der Fadentheorie, nicht unerheblich von einander ab. Die Antwort, die wir demnach auf die Grundfrage aller biologischen Forschung, auf die Frage nach der Struktur des Protoplasmas selbst erhalten, ist eine sehr verschiedenartige — ein deutlicher Beweis dafür, dass wir sie mit Sicherheit überhaupt nicht beantworten können.

1) F. Schenck will allerdings diese Bezeichnung beseitigen und setzt an seiner Stelle den Ausdruck: „Organisationseinheit“ oder „Elementarorganisation“.

Die Ursache dieser Erscheinung ist nun gerade in letzter Zeit in kritischer Weise geprüft worden. A. Fischer hat darauf hingewiesen, dass unsere Anschauungen über Protoplasmastruktur sich fast ausschliesslich auf die an fixierten Geweben gewonnenen Untersuchungsergebnisse stützen; alle Fixierungsmittel aber fällen, wie er des Näheren in umfassender Weise geprüft hat, die in den Zellen enthaltenen Eiweisskörper aus, „und zwar in Formen, die bald der Granula-, bald der Gerüst- und Filartheorie förderlich sein können“. „Was man als die Andeutung einer vitalen, unsichtbaren Struktur deutet, ist in Wirklichkeit oft nur ein Fällungsbild, das natürlich an demselben Objekte mit der Regelmässigkeit wiederkehren muss, mit der auch die vitalen Vorgänge im Zelleib sich wiederholen.“

Die Bedeutung der Untersuchungen von A. Fischer liegt nun gewiss nicht allein in der scharfen Kritik, mit welcher er an die gangbaren Anschauungen über Zellstrukturen herantritt und mit der er wohl in manchen Punkten zu weit gegangen ist. Warum und wann wir berechtigt sind, gewisse, wenn auch erst durch die üblichen Fixierungsmittel sichtbar werdende Strukturen als vitale anzusprechen, das ist namentlich von Flemming in überzeugender Weise ausgeführt worden. Und das schlagendste Beispiel dafür, dass die durch Fixierung gewonnenen Bilder, in vielen Fällen wenigstens, trotz ihrer Ähnlichkeit mit einfachen Fällungsbildern der Eiweisskörper, dennoch eine vitale Struktur zur Grundlage haben müssen, ist wohl in dem von C. Rabl (gestützt auf die Angaben von Mark und Kostanecki-Siedlecki) erbrachten Hinweise darauf zu erblicken, dass fixierte Präparate von Schneckeneiern ein Strukturbild zeigen, das mit der Rechts-, beziehungsweise Linksdrehung des Körpers der betreffenden Schneckenart übereinstimmt.

Allein zweifellos dürfen wir, mit Rücksicht auf die Ergebnisse der Fischerschen Untersuchungen, aus den durch Fixierung der Gewebe gewonnenen Bildern nur mit äusserster Vor-

sicht Schlüsse auf die wirkliche vitale Struktur der betreffenden Zellarten uns erlauben, ohne dass es freilich deshalb notwendig wäre, das Gesamtgebiet der ersteren als eine bedeutungslose „Morphologie der Fällungsprodukte im Protoplasma“ anzusehen.

Wesentlicher als die negativen Resultate wird aber wohl an der Arbeit von Fischer der Umstand sein, dass sie uns den Weg zeigt, in rationeller und Erfolg verheissender Weise die physikalischen und chemischen Ursachen jener Strukturen des Plasmas zu ermitteln, welche wir entweder direkt an der lebenden Zelle konstatieren oder wenigstens nach Befunden an fixierten Präparaten in ihr vermuten können.

Hieraus ergibt sich nun von selbst, die Aufgabe, der lebenden Zelle zunächst auf mikroskopischem Wege näher zu treten, und so erwartet denn auch Fischer, dass man nunmehr dem Studium der lebenden Zelle eine grössere Aufmerksamkeit zuwenden wird, wenn man etwas über den eigentlichen strukturellen Aufbau ihres Körpers wird ermitteln wollen.

Die Grenzen, innerhalb deren sich solche Untersuchungen an der lebenden unveränderten Zelle bewegen können, sind jedoch bei den uns heute zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln sehr eng gezogen. Es wäre daher zweifellos ein grosser Vorteil, wenn wir imstande wären, in derselben Weise wie an der fixierten, so auch an der lebenden Zelle bestimmte Elemente ihres Plasmas durch Färbung vor den übrigen deutlich hervortreten zu lassen.

Ob dieses Ziel überhaupt erreichbar ist und welche Schlüsse sich eventuell auf diesem Wege über den architektonischen Aufbau des Plasmas ermitteln lassen, das festzustellen, war der Zweck der nachfolgenden Untersuchungen. In ihrer Methodik sind sie, wie bekannt, durchaus nicht die ersten ihrer Art: „Vitale“ Färbungen sind ja wiederholt schon vorgenommen worden. Auf die bezügliche

bekannte Litteratur brauche ich hier umso weniger näher ein zugehen, als ich sie im Wesentlichen schon in meiner früheren, sich mit vitaler Färbung beschäftigenden Arbeit berücksichtigt habe. Seither sind wiederum einige Mitteilungen dieser Art erschienen und namentlich ist J. Arnold nicht müde geworden, auf die grosse Bedeutung des Gegenstandes hinzuweisen. Ich werde diese Angaben an entsprechender Stelle berücksichtigen. — Bei allen bisher erschienenen Arbeiten dieser Art handelt es sich aber entweder nur um gelegentlich angestellte Versuche, denen die Autoren selbst keine nähere Untersuchung widmeten oder um Versuche, welche ausschliesslich zu physiologischen Untersuchungszwecken vorgenommen wurden; oder endlich beziehen sich diese Mitteilungen auf nur einen oder ganz wenige Farbstoffe. Systematisch aber, lediglich um seiner selbst und um der oben angegebenen Ziele willen, auf die allein es wesentlich ankommt, ist der Gegenstand bisher nicht geprüft worden.

Material und Methode.

Das Material zu einer solchen Untersuchung muss besondere Bedingungen erfüllen: Seine Zellen müssen genügend gross und ferner so beschaffen sein, dass sie histologische Details, soweit dieselben an der lebenden Zelle überhaupt sichtbar sind, leicht erkennen lassen, auch muss es möglich sein, den Erfolg der „vitalen“ Färbung durch längere Zeit am lebenden Tiere verfolgen zu können. — Vortrefflich eignen sich für diese Zwecke gewisse Amphibienlarven, die grosse Zellen besitzen und sich bequem in Wasser aufziehen lassen. Die nachfolgenden Angaben beziehen sich auf die Larven von *Rana temporaria*, *Siredon pisciformis* und *Salamandra maculosa*. Während jedoch von den beiden erstgenannten Arten nur die Larven einer bestimmten Entwicklungsperiode (*Rana tempor.* von 8—10 mm, *Siredon piscif.* von 10—13 mm Länge) untersucht und an ihnen

nicht die ganze Reihe der verwendeten Farbstoffe¹⁾ durchgeprüft wurde — es zeigte sich nämlich bald, dass die Wirkung derselben im Prinzip mit der auf Larven von *Salamandra macul.* ausgeübten übereinstimmte — wurden die Larven der letztgenannten Art von sehr frühen, zu diesen Untersuchungen überhaupt geeigneten Stadien (ca. 20 mm Länge) an bis zum Ende der Larvenperiode auf ihr Verhalten zu sämtlichen unten genannten Farbstoffen hin geprüft.

Die Methode der Untersuchung, durch die Wahl des Materials selbst gegeben, war eine sehr einfache: Die Larven wurden in Wasser gebracht, in welchem der betreffende Farbstoff gelöst worden war²⁾. Die zur Erzielung der Färbung notwendigen, im allgemeinen sehr geringen Konzentrationsgrade der Lösungen sind für die einzelnen Farbstoffe sehr verschiedene. Von ihrer genaueren Angabe sehe ich, da hierbei sorgfältige Individualisierung notwendig ist, ab. Bemerkt sei nur, dass von jedem Farbstoffe mindestens zwei Lösungen geprüft wurden, eine sehr schwache und eine ziemlich konzentrierte.

Was die Wahl der angewandten Farbstoffe betrifft, so musste einfach empirisch vorgegangen werden. Denn über die — eventuellen — Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution eines Farbstoffes und seiner Fähigkeit „vital“ zu färben, ist uns nichts Näheres³⁾ bekannt. So blieb nichts übrig, als einfach eine möglichst grosse Zahl von Stoffen — es

¹⁾ Diese beiden Larvenarten vertragen nur relativ geringe Mengen von Farbstoffen und es erfordern daher die an ihnen angestellten Versuche grössere Vorsicht; auch ist bei *Rana temp.* infolge der starken Pigmentierung die erzielte Färbung nicht so deutlich hervortretend.

²⁾ Manche der Farbstoffe mussten in heissem Wasser, welches dann abgekühlt wurde, gelöst werden. Eventuell wurde auch filtriert.

³⁾ Die hierüber vorliegenden Angaben werde ich in einem besonderen Kapitel besprechen.

wurden nahezu 100 versucht¹⁾ — auf die lebenden Tiere einwirken zu lassen, um erst nach den auf diesem Wege erzielten Resultaten den Versuch zu machen, ob und in welchem Sinne sich überhaupt die fragliche Beziehung zwischen der chemischen Konstitution und dem Färbungsvermögen der betreffenden Körper ermitteln lässt. Die einzige Bedingung bei dieser Wahl konnte nur die sein, dass sich der Farbstoff in Wasser, zum Teile wenigstens, lösen liess. — An den untersuchten Tieren wurde ferner, wenn auch die übrigen Gewebe nicht unberücksichtigt blieben, vorwiegend und genauer nur eine Zellart auf ihr Ver-

1) In alphabetischer Ordnung aufgezählt sind es folgende:

Acetinblau, Acridinorange, Alizarin, Alizarinblau, Alkaliblau, Anilgrün, Anilinblau, -gelb, -violett, Auramin, Azoblau;
 Baslerblau, Bayrischblau, Benzylblau, Bindschedlersches Grün, Biondisches Farbgemisch, Bismarckbraun, Bleu de Lyon, Bordeaux R, Brasilin, Brillantgrün;
 Capriblau, Carmalaun, Chromogen, Coerulein S, Congoröth, Corallin, Crocein-Scharlach, Cyanin;
 Dahlia, Diamantfuchsin;
 Echtblau B A,¹ Echtrot D, Eosin;
 Fuchsin S;
 Gentiānaviolett, -B, Goldorange;
 Hämatein, Hämatoxylin, Helianthin, Hofmanns Violett;
 Indigoblau, Indophenol, Indulin; — Janusgrün;
 Krystallviolett; Lauthsches Violett;
 Magdalarot, Metanilgelb, Methylenblau rectificat. und B. X, Methylviolett, -grün, Muchämatin;
 Naphtylamingelb, Neutralrot, -violett, Nigrosin, Nilblaulorhydrat, -sulfat;
 Orange (3 verschiedene Arten), Orcein;
 Pfauenblau, Phenylenblau, Phloxin, Pikrokarmīn (Ranvier), Ponceau GG. und R, Pyronin;
 Reginaviolett, Rhodamin, Roccellin, Rosanilinbase, -chlorhydrat, Rose bengale, Rubinviolett;
 Safranin, -B extra, Säurebraun, Säuregelb;
 Tartrazin, Toluidinblau, Toluylenblau, Tropaeolin;
 Uranin;
 Viktoriablau;
 Wasserblau 4 B und RR;
 Xylidin-Ponceau.

halten den Farbstoffen gegenüber geprüft, und zwar die Zellen des Hautepithels und der Cornea. Diese absichtliche Einschränkung empfahl sich aus dem Grunde, um nicht eventuelle kleine Unterschiede und Veränderungen der Reaktion bei der Anwendung verschiedener Farbstoffe oder während einer längeren Einwirkung eines und denselben Farbstoffes zu übersehen, was leicht möglich ist und was gerade hier, wo es auf die sichere Konstatierung schon der kleinsten Reaktionsunterschiede ankommt, vermieden werden musste. Diese Beschränkung auf eine einzige, aber eben deshalb um so genauer in ihren Veränderungen erkennbare Zellart beeinträchtigte übrigens, wie die gleichzeitige, hier nicht immer besonders erwähnte Untersuchung der Zellen der übrigen Gewebarten lehrte, die Giltigkeit der später gezogenen Folgerungen allgemeiner Natur in keiner Weise.

Die Untersuchung der betreffenden Hautteile selbst wurde, soweit dies überhaupt möglich war, direkt am lebenden, leicht (z. B. durch Tabaksrauch) betäubten Tiere vorgenommen; bei den Larven von *Salamandra macul.*, namentlich bei den älteren, empfiehlt es sich und ist zumeist zur Erkennung von Details direkt notwendig, die Haut selbst abzuziehen, was bei einiger Übung leicht gelingt. In physiologischer Kochsalzlösung frisch untersucht, unterscheidet sich die Färbung solcher Hautstücke, wenn sie schonend abgelöst wurden, absolut nicht von der am lebenden Tiere, und man ist daher auf diese Weise imstande, jede einzelne Epithelregion der Hautdecke, für sich isoliert, auch mit stärkster Vergrößerung, bequem zu untersuchen.

Da ferner diese Untersuchung wesentlich erleichtert wird, wenn die Epithelzellen möglichst wenige Pigmentkörnchen enthalten, so wurden speziell die Larven von *Salamandra macul.*, noch vor ihrer Färbung, nach der von mir und Flemming angegebenen Weise (durch Wärme und Licht) gebleicht, und zwar zumeist bis zu dem durch Figur 1 (Taf. XXXVIII) wiedergegebenen Grade.

Indem ich nunmehr zur Darstellung der gewonnenen Resultate der Untersuchung übergehe, bemerke ich, dass ich zunächst die Schilderung der allgemeinen biologischen Wirkung der Farbstoffe voranstelle, hierauf die histologischen Ergebnisse mitteile, um dann erst jene Schlussfolgerungen zu besprechen, welche sich hinsichtlich des Chemismus der „vitalen“ Färbung, sowie hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Ermittlung der feineren Struktur des Zelleibes ziehen lassen.

Untersuchungsergebnisse.

Ihrer Wirkung auf die untersuchten Larven nach kann man die verwendeten Farbstoffe in mehrere Gruppen anordnen.

Es giebt zunächst solche, die sich vollkommen indifferent erweisen: Sie rufen auch, in konzentrierterer Lösung angewendet, keine mikroskopisch nachweisbaren Veränderungen der Zellen hervor und es können die Tiere lange Zeit in ihnen verweilen, ohne dass ihre normalen Funktionen in irgendwie erkennbarer Weise beeinträchtigt würden. Als solche Stoffe¹⁾ erwiesen sich:

Von Oxydationsprodukten des

Anilins: Indulin, Nigrosin, Acetinblau;

von Oxazinen: Capriblau, Echtblau B. A.;

von Oxydationsprodukten des

Toluidins: Safranin, -B extra;

von Oxydationsprodukten der

Gemische des Anilins und

Toluidins: Diamantfuchsin, Fuchsin S, Rosanilin-Base, -chlorhydrat, Alkaliblau, Wasserblau 4 B, Wasserblau R R, Bayrischblau;

¹⁾ Geordnet nach dem Werke von Bolles-Lee und Henneguy, sowie mit Hilfe der „Farbenchemie“ von Georgievicz.

von Substitutionsprodukten eines

H-Atoms des Rosanilins durch

Methyl- und Aethylradicale: Bleu de Lyon, Toluidinblau;

von Substitutionsprodukten

durch eine Phenylgruppe: . Anilinblau;

von Azofarben: Säuregelb, Orange, Helianthin,
Azoblau, Janusgrün;

von Hydrazonen: Tartrazin;

von Oxyazofarben: Tropaeolin, Roccelline, Crocein-
Scharlach, Echtrot D, Ponceau
GG, Ponceau R, Xylidin-Pon-
ceau, Bordeaux R, Congorot;

von Phtaleinen: Eosin, Rose bengale, Phloxin,
Uranin, Coerulein S, Rhodamin,
Pyronin;

von Anthracenen: Alizarinblau;

ferner: Indophenol, Toluylenblau, Indigoblau, Chromogen, Orcein,
Hämatoxylin, Hämatein, Muchämatin, Carmalaun, Pikrokarmin,
Biondisches Gemisch¹⁾).

Es gewährt einen überraschenden Anblick und liefert den augenfälligsten Beweis für die elektive Thätigkeit der lebenden Zelle, wenn man sieht, wie die Larven in diesen, wenn auch sehr konzentrierten Farblösungen tagelang zu verharren vermögen, ohne sich zu färben oder von dem Medium irgendwie beeinflusst zu werden. Für die Bedeutung dieser Thatsache ist es aber, worauf gleich hier hingewiesen werden möge, von besonderer Wichtigkeit, dass es Farben giebt, welche einzelnen dieser indifferenten Stoffe chemisch sehr nahe verwandt sind und welche trotzdem die entgegengesetzte Wirkung — lebhaft Färbung von Zellelementen — ausüben.

¹⁾ Die letzterwähnten Farbgemische wurden des Versuches halber mit herangezogen.

In sehr starken Lösungen und bei langer Einwirkung kann übrigens der eine oder der andere dieser Farbstoffe eventuell eine ganz leichte, diffuse Färbung der Larven hervorrufen; allein niemals vermag man dann mikroskopisch nachzuweisen, dass der Farbstoff an bestimmte Elemente in den Zellen selbst gebunden ist; es handelt sich also lediglich um eine gleichmässige leichte Durchtränkung der Gewebe des Tieres mit der Farblösung.

In geradem Gegensatze zu dieser Gruppe steht eine Reihe anderer Farbstoffe, welche sich, allerdings in verschiedenem Grade und in verschiedener Wirkungsart, als direkte Gifte für das Leben unserer Larvenzellen erweisen. Es können dabei diese Körper ihren tötenden Einfluss ausüben, ohne die Gewebe überhaupt oder in deutlich merkbarem Grade zu färben, wie z. B. das Corallin, Magdalarot, Brillantgrün, Goldorange, Säurebraun, Brasilin; oder aber sie färben, in stärkerer Lösung angewendet, die Larven sofort oder kurz vor ihrem Tode, und zwar in der Art, dass diese entweder überall oder wenigstens an den pigmentfreien Hautstellen deutlich den Ton der betreffenden Farbe aufweisen; auch hier aber ergibt die mikroskopische Untersuchung keine distinkte Färbung, sondern nur eine diffuse Durchtränkung mit dem betreffenden Stoffe. In dieser Weise verhalten sich das Benzyl-, Pfauen- und Baslerblau; das Bindschedlersche und das Anilgrün; das Anilin-, Metanil- und das Naphtylamingelb, sowie das Acridinorange; beim Viktoriablau erscheinen hiebei die pigmenthaltigen Hautstellen grün, die pigmentfreien blau, ein Unterschied, der sich auch sonst noch bei anderen Farbstoffen findet und dessen Ursache noch näher besprochen werden soll. Eventuell sind auch in einzelnen Leydig'schen Zellen die sogenannten Mucingranula gefärbt; doch ist das sehr inkonstant und hängt offenbar, wofür auch der grosse Wechsel der hierbei sichtbaren Farbentöne spricht, von besonderen funktionellen

Zuständen dieser Gebilde ab. — Ähnlich sind die Veränderungen beim Anilgrün; sehr ungleich dagegen verhält sich das Methylgrün. Zumeist jedoch zeigt sich bei seiner Einwirkung ein Farbumschlag, eine Metachromasie, in der Art, dass die Larven in der grünlichblauen Lösung rötlich, an den pigmentfreien Hautstellen und namentlich an der Flimmerzellen enthaltenden, kreisförmigen Zone um die Nasenöffnung violett gefärbt werden. — Bei den meisten dieser giftig wirkenden Farben wurde ferner, oft erst kurz vor dem Tode der Tiere, eine eigenartige Anordnung der Pigmentkörnchen in den Epithelzellen wahrgenommen: Während sie normaler Weise die Zellen gleichmässig erfüllen, ballen sie sich nach Einwirkung der erwähnten Stoffe in unregelmässigen, verschieden grossen und dichten Haufen mehr in der Mitte zusammen.

In gewissem Gegensatze hierzu steht die Wirkung des (im übrigen gleichfalls giftigen)¹⁾ Cyanins. Die grossen Pigmentzellen der Cutis (namentlich bei Siredonlarven) werden durch dasselbe förmlich zersprengt; an ihrer Stelle bilden sich zahlreiche kleine, kreisrunde Pigmentkönnchenhaufen, deren Elemente in lebhafter Molekularbewegung schwingen. Ähnliches ist auch an den Kernen der Epithelzellen, welche stark gequollen aussehen, zu beobachten: Innerhalb der Membran des kugelrund erscheinenden Kernes sieht man zahlreiche (ungefärbte) Granula im Kernsaft in deutlicher Brownscher Molekularbewegung begriffen²⁾.

Eine weitere Reihe von Farbstoffen nimmt eine eigenartige, gewissermassen eine Mittelstellung zwischen den bisher besprochenen beiden Gruppen ein. Hierher gehören zunächst einige Körper,

1) Im Gegensatze hierzu hat Certes an Leukocyten, bei erhaltener Bewegungsfähigkeit, Färbung mit Cyanin erzielt.

2) Sigm. Mayer hat die gleiche Erscheinung nach Anwendung von Chloralhydrat beobachtet. (Nach einem im Vereine „Lotos“ im Jahre 1899 gehaltenen, aber nicht gedruckten Vortrage.)

die vom Fuchsin, das, wie erwähnt, selbst nicht färbt, abstammen und sämtlich violett sind: Methyl-, Krystall-, Hofmanns-, Regina-, Rubin-, Anilin-, Lauthsches und Gentiana-violett (-B). Ihre gemeinsamen Eigenschaften bestehen zunächst darin, dass sie sich nur in stärkeren Lösungen als rasch wirkende Gifte erweisen, aber auch in schwacher Lösung nach längerer Einwirkung nicht vertragen werden; dass ferner in ihnen die Larven in ziemlich übereinstimmender Weise gefärbt werden: Während jene Zonen des Hautepithels, deren Zellen Pigmentkörnchen enthalten, dunkelviolett werden, erscheinen die pigmentfreien (oder -armen) hellviolett bis blau gefärbt. Die Kiemen sind lebhaft und zwar gleichfalls zumeist hellviolett tingiert.

An einigen Stellen des Kopfes der Salamanderlarven finden sich, wie ich vor einiger Zeit näher beschrieben habe (46), konstant zahlreiche Flimmerzellen. Von diesen Regionen hebt sich namentlich die um die Nasenöffnung befindliche, kreisförmige scharf durch ihre besondere Farbennuance von der violett gefärbten Nachbarschaft ab. Es stimmt überhaupt die Reaktion der Zellen dieser Zone nicht nur diesen sondern allen anderen Farbstoffen gegenüber genau überein mit jener, welche den Zellen der Nasenschleimhaut zukommt: Trotz ihrer morphologisch nicht unbedeutlichen Verschiedenheiten sind daher diese beiden Zellarten ihrem chemischen Baue nach wahrscheinlich gleichwertige oder wenigstens sehr ähnlich zusammengesetzte Gebilde.

Untersucht man das Hautepithel einer mit diesen Stoffen gefärbten Larve mikroskopisch, so kann man, ausser einer leichten, wenn überhaupt vorhandenen ins Blau oder Grün spielenden Farbennuance der, sonst braun erscheinenden, Pigmentkörnchen der oberflächlich gelegenen Epithelzellen, von der tiefen Schicht des Epithels ziemlich übereinstimmend das in Fig. 11 (Taf. XXXVIII) dargestellte, von einer Methylviolett-Larve stammende Bild erhalten. Die in dieser Epithelschicht vorhandenen Leydigischen

Zellen (LZ) ¹⁾ leuchten als mehr oder minder kreisförmige ²⁾ vollkommen ungefärbt gebliebene Elemente aus dem Violett ihrer Nachbarschaft hervor, welche gleichmässig von der Farblösung durchtränkt ist, ohne dass sich in den zwischen den Leydigischen befindlichen Zellen besondere Elemente mit dem Farbstoffe beladen hätten. Diese Reaktion bildet demnach, wie aus der Figur ersichtlich, ein förmliches Negativ der ungefärbt gebliebenen Leydigischen Zellen.

Zeigt sich in dieser Abweisung des Farbstoffes ein elektives Verhalten der Zellen den Farbstoffen gegenüber, so wird das letztere durch die Reaktion derselben Zellart einem anderen Farbstoffe gegenüber ergänzend illustriert. Setzt man nämlich die Larven in eine Auramin-Lösung, die, wenn sie nicht tödlich wirken soll, nicht allzu stark sein darf, so erscheinen die Tiere gleichmässig gelb gefärbt (stärker noch als in Fig. 3); mikroskopisch untersucht bietet jedoch ihr Hautepithel ein Bild dar, das in geradem Gegensatze zu dem mit Methylviolett erzielten steht (Fig. 12): Jetzt erscheinen gerade die Leydigischen Zellen, und zwar intensiv gelb gefärbt, ihre Nachbarschaft dagegen hat den Farbstoff nicht angenommen. Wir können also, je nach Wahl der färbenden Substanz, ein negatives oder positives Bild einer bestimmten Zellart im Hautepithel erhalten.

In der Mitte der Figg. 11 und 12 sind Hautsinnesorgane (im Flächenbilde) dargestellt, deren Zellen gleichfalls mit den angewendeten Farbstoffen gleichmässig durchtränkt sind. Es besitzen überhaupt die Zellen dieser Organe, sowie diejenigen der Drüsenöffnungen in der Haut, eine besondere Affinität zu

¹⁾ Der in den Figuren dargestellte Kreis in der Mitte dieser (und einiger anderer) Zellen entspricht natürlich nicht dem Kerne selbst, der am frischen Präparate überhaupt nicht deutlich zu sehen ist. Es soll damit nur seine ungefähre Lage angegeben sein.

²⁾ Die Form dieser Zellen variiert an den verschiedenen Hautregionen. Sie können kreisrund, oval, oder selbst polygonal konturiert sein.

vielen Farbstoffen, welche oft, dem Farbentone ihrer Nachbarschaft oder dem der verwendeten Farblösung gegenüber als ein Farbenumschlag, eine Metachromasie, auftritt. So heben sich z. B. diese Organe, wie Fig. 14 zeigt, bei mit Dahlia gefärbten Larven von ihrer entweder ungefärbt gebliebenen oder leicht gelblich erscheinenden Umgebung durch ihre besondere Färbung scharf ab. — Innerhalb der Zellen dieser Organe, und zwar an ihrer freien Seite, lassen sich ferner mit den meisten Farbstoffen, so auch mit Auramin und Dahlia (vgl. die Figg. 12 und 14) Körnchen, welche den Farbstoff angenommen haben, nachweisen. Es sind das Elemente, die auch bei normalen (ungefärbten) Larven als glänzende, farblose Granula an den gleichen Stellen sich finden¹⁾.

Mit den bisher genannten Stoffen kann man unsere Larven in verschiedenstem Grade färben und sie eine Zeit lang in diesem Zustande lebend erhalten. Die auf diese Weise erhaltenen histologischen Resultate stehen an Bedeutung weit hinter denen zurück, welche man mit Hülfe der am Schlusse zu besprechenden Farbstoffe erzielen kann; auch sind, wie erwähnt, die genannten Stoffe nicht ungiftig. Bevor ich jedoch zur Besprechung der Alizarinwirkung und zu der letzten Gruppe von Farbstoffen übergehe, soll vorher noch die Wirkung zweier weiterer Substanzen, auch im Bilde, vorgeführt werden, die zu den das Leben der Larven weniger schädigenden gehören.

Die Fig. 2 zeigt das Resultat einer Färbung mit Malachitgrün, das durch einen Vergleich mit der daneben gezeichneten normalen (gebleichten) Larve (Fig. 1) besonders deutlich hervortritt. Die schöne grüne Farbe der Larve wird auch beim Aufenthalte in ungefärbtem Wasser noch einige Zeit hindurch

1) Farblose Granula scheinen in Drüsenzellen ganz allgemein vorzukommen. Die Frage nach ihrer Bedeutung ist in neuerer Zeit durch die Arbeiten von R. Krause, E. Müller, Solger und H. Held in Fluss gekommen.

weiter behalten, beruht aber, wie die mikroskopische Untersuchung lehrt, lediglich auf einer völlig gleichmässigen Durchtränkung der Gewebe des Tieres mit der Farblösung; nur die Körnchen in den Zellen der Hautsinnesorgane und Drüsenöffnungen sind, durch Annahme des Farbstoffes, intensiv gefärbt, sonst sind aber in keiner Zelle gefärbte Granula nachzuweisen.

Etwas weniger ungiftig erweist sich jener Farbstoff, dessen Effekt die Fig. 3 veranschaulicht: Das Chrysoidin. Die stark gelbe Färbung der Larve resultiert aus der gleichen Ursache wie im vorhergehenden Falle, es handelt sich wiederum lediglich um eine Farbstoff-Durchtränkung, nicht um die Färbung distinkter Zellbestandteile. — Rasch (durch starke Lösungen) gefärbt, bleiben die Tiere bewegungslos am Rücken liegen, erholen sich aber in reinem Wasser rasch und behalten ihre Färbung durch längere Zeit bei.

Eine isolierte Stellung allen anderen Farbstoffen gegenüber, also eine Gruppe für sich, nimmt das Alizarin ein. Diese Substanz stellt das wirksame Prinzip des Krappls dar, in dessen, bis in das 16. Jahrhundert zurückgehender¹⁾ Anwendung bei Fütterungsversuchen wir die ersten Versuche einer „vitalen“ Färbung zu erblicken haben.

Setzt man Salamanderlarven in eine Lösung des Alizarins, so färbt sich nach einiger Zeit — da nur schwache Lösungen angewendet werden dürfen, so dauert das oft einige Tage — die neu entstehende Knochensubstanz rot und man kann, wie Fig. 4 zeigt, am lebenden Tiere alle nicht zu sehr durch die Weichteile verdeckten Knochen durch die Haut hindurchsehen. So tritt am Schädel der abgebildeten Larve u. a. sehr deutlich der in diesem Stadium ausgebildete knöcherne

¹⁾ Nach einem (nicht veröffentlichten) Vortrage von Herrn Prof. S. Mayer im Vereine „Lotos“, 1900.

Anteil des Frontale und des Parietale hervor; als feines, rotes Stäbchen schimmert rückwärts jederseits das Pterygoid durch die Haut hindurch; an den Extremitäten sind alle in diesem Stadium vorhandenen knöchernen Anteile gut sichtbar; zieht man die Haut ab, so kann man auch die übrigen Knochen, z. B. die Wirbelkörper, rot gefärbt erblicken. Die Gesamtfarbe der Larvenhaut ist eine braungelbe.

Untersucht man nun das Hautepithel mikroskopisch, so zeigt es sich, das auch das histologische Bild, wie das makroskopische, ein ganz eigenartiges, nur diesem Farbstoffe allein zukommendes ist. Auch hier handelt es sich um keine Färbung besonderer Inhaltseinschlüsse der Zellen; die letzteren erscheinen vielmehr im Ganzen leicht gelblich gefärbt. Aber zwischen ihnen, in den Intercellularlücken, sind zahlreiche, kleinste, braunrote Körnchen enthalten, welche in regelmässigen Abständen voneinander, die Intercellularlücken erfüllen und einen förmlichen Ausguss derselben, an die bekannten Silberbilder in Endothelien erinnernd, darstellen. Das äusserst zierliche Bild hiervon das Fig. 13 darstellt, stammt von einer Zone der Kopfhaut, an welcher pigmentkörnchenreiche Zellen mit pigmentarmen, aber Flimmer besitzenden (F Z) abwechseln.

Wie diese Reaktion entstand, ob der Farbstoff durch die in den Intercellularlücken enthaltene Substanz selbst aus der Lösung in Körnchenform gefällt wurde, oder aber, ob er die Zellen passierte, von ihnen in Körnchenform in die Intercellularräume secerniert wurde, oder endlich, ob er an präexistente, in den letzteren befindliche sonst farblose Körnchen¹⁾ gebunden

¹⁾ Man könnte da an die von Reinke (1894) beschriebenen und abgebildeten knopfartigen Verdickungen der Intercellularbrücken denken. Sie wurden zuerst von Bizzozero gesehen und die Litteratur hierüber kürzlich des Genaueren von Weidenreich (Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 56, 1900) besprochen.

wurde — zwischen all diesen denkbaren Möglichkeiten ist eine sichere Entscheidung nicht möglich.

Es darf aber nicht unerwähnt bleiben, dass die zuletzt beschriebene Reaktion nicht konstant an allen Hautbezirken und ferner zumeist erst nach Anwendung von Lösungen eintritt, die infolge ihrer Konzentration bei längerer Einwirkung auf die Larven giftig sein können. Der ersterwähnte Umstand weist darauf hin, dass ihr Zustandekommen wesentlich von besonderen funktionellen Zuständen des Hautepithels abhängt.

Die letzte, ihrer Bedeutung nach aber wichtigste Gruppe von Farbstoffen wird durch folgende Vertreter repräsentiert: Bismarckbraun (Vesuvין oder Manchesterbraun); Methylenblau rectific. und B. X.; Neutralrot; Neutralviolett; Nilblausulfat und Nilblauchlorhydrat¹⁾.

Das Vesuvין, ein einfach basischer Azofarbstoff, übt in starker Lösung einen ähnlichen Einfluss auf die Larven aus, wie das in dieselbe chemische Gruppe von Farbstoffen gehörige, aber einfacher zusammengesetzte Chrysoidin: Die Tiere können in einer solchen Lösung rasch, oft schon in wenigen Minuten, intensiv gefärbt werden, liegen aber dann vollkommen regungslos auf dem Rücken und sterben, in der Farblösung belassen, bald ab. In reines Wasser gebracht erholen sie sich dagegen rasch, behalten den Farbstoff bei und sind im Übrigen, trotz intensiver Färbung vollkommen normal. Die Fig. 5 stellt eine solche mit Bismarckbraun, aber durchaus nicht mit der grösstmöglichen Intensität gefärbte Larve dar; je nach der angewandten Farblösung kann die Hautfarbe vom tiefsten Braun bis zum Hellgelb schwanken. Die Nuance der Färbung ist hier wie bei

¹⁾ In Bezug auf die Litteratur über die ersterwähnten Farbstoffe verweise ich auf meine, Eingangs citierte Arbeit; auf das Neutralviolett bin ich durch eine Angabe von Michaelis, auf die beiden Nilblauverbindungen durch die Arbeiten von Loisel aufmerksam gemacht worden.

den übrigen Stoffen an verschiedenen Körperstellen eine verschiedene; es hängt das von dem Gehalt der Epithelzellen der betreffenden Hautregion an Pigmentkörnchen, sowie von der Art und eventuellen Färbung der unter dieser Hautstelle gelegenen Gebilde ab. — In reinem Wasser aufgezogen behalten die Tiere auch monatelang den Farbstoff bei, ohne auch nur eben sichtbare Spuren von ihm an das Medium abzugeben. Später ändert sich der Ton der Färbung etwas, indem er mehr gegen rot hinneigt; intensiv gefärbt können aber die Larven bis zu ihrer Metamorphose erhalten werden; um diese Periode erleiden sie Veränderungen, die ganz analog den später vom Neutralrot geschilderten sind.

Ohne jeden ersichtlichen Schaden können weit grössere Mengen als vom Vesuvium von dem zur Gruppe der Thiazine gehörenden Methylenblau *rectific.* aufgenommen werden. (Das Methylenblau B. X. wird weniger gut vertragen und liefert auch keine so klaren histologischen Bilder, weshalb im weiteren nur das erstere berücksichtigt werden soll.) Die angewendete Lösung muss sogar ziemlich stark sein. Die Larven werden in ihr rasch lebhaft grün gefärbt, wie sie Fig. 6 zeigt. An den pigmentarmen Hautstellen ist die Farbe blau (bis violett); die Flimmerzellen enthaltenden Regionen sind heller als ihre Nachbarschaft. — Obzwar Methylenblau auch in starken Lösungen vertragen wird, darf der Konzentrationsgrad derselben doch eine gewisse Grenze nicht überschreiten, wenn die Tiere nicht geschädigt werden sollen. — In reines Wasser versetzt, verhalten sie sich vollkommen normal und verlieren erst nach monatelangem Aufenthalt ihre grüne Färbung. Da der Farbstoff hierbei anscheinend nicht an das Wasser abgegeben wird, so handelt es sich bei dieser Aufhellung wahrscheinlich um eine chemische Zersetzung desselben im Larvenkörper selbst.

Das zur Gruppe der Eurhodine gehörige Neutralrot dürfte der geeignetste Stoff zur vitalen Färbung sein. Mit ihm wurden

denn auch die meisten Versuche angestellt und ist die Beobachtungsdauer der damit gefärbten Larven die längste (fast 11 Monate).

Es wird, ohne zu schaden, rasch und in so bedeutenden Mengen aufgenommen, dass die Larven dunkelrot, ja fast schon schwarz erscheinen können. Einen mittleren Färbungsgrad weist die in Fig. 7 gezeichnete Larve auf; bei schwacher Färbung ähneln die Larven den mit Vesuvium behandelten (Fig. 5). — Das Neutralrot wird, so wie ich das auch an Echinodermen-eiern beobachten konnte, selbst aus schwachen Lösungen begierig aufgesogen, die Zellen beladen sich damit in der ihnen überhaupt möglichen intensivsten Weise. Ist einmal diese Affinität der Zellen zu dem Farbstoffe befriedigt, so verändern sich die Larven nicht mehr, auch wenn man sie, was ohne Schaden geschehen kann, auch weiterhin tagelang in starken Lösungen hält. Sie geben aber anderseits den Farbstoff, wenn man sie in reines Wasser bringt, nicht wieder ab. Nur unmittelbar nach ihrer Versetzung in das ungefärbte Wasser wird eine Spur desselben abgegeben — wahrscheinlich nur die überschüssige, diffus im Gewebe enthaltene Menge desselben. Dann aber bleiben die Tiere unverändert und auch das histologische Bild ändert sich nicht, selbst noch Monate nach vollzogener Färbung findet sich das Neutralrot an dieselben Elemente und in derselben Weise in den Zellen gebunden vor, wie zu Beginn des Versuches. Erst gegen Ende der Larvenperiode ändert sich dies. Die Pigmentierung der oberflächlichen Epithelschichte nimmt zu und in gleichem Masse schwindet aus ihr die rote Farbe, erhält sich aber noch in den tieferen Lagen (Fig 44, Taf. XLI). Fünf bis sechs Monate nach vollzogener Färbung sind die Larven immer noch, besonders an gewissen Körperteilen, lebhaft rot gefärbt (Fig. 8) und namentlich die pigmentarmen Hautstellen behalten den Farbstoff sehr lange bei; so weisen z. B. die Nasen- und Schnauzenregion auch noch nach 7 bis

8 Monaten, wo die meisten anderen Hautbezirke infolge ihrer Pigmentierung den roten Farbenton verloren haben (wenn sich auch in der tiefen Epithellage noch immer das Neutralrotbild nachweisen lässt), eine sehr deutliche Rötung auf. Zur Zeit der Metamorphose schwindet dann das Neutralrot durchwegs; die jetzt den normalen (ungefärbten) vollkommen gleich sehenden Larven vermögen sich aber, in neue Farblösung gebracht, wiederum mit dem Farbstoff zu beladen, allerdings weniger als früher von seite ihrer oberflächlichen, jetzt stark pigmentierten Epithellage.

Trotz dieser grossen Affinität der Larvenzellen zu dem Neutralrot ist das letztere dennoch kein für das normale Zellleben absolut indifferenter Körper: Die mit ihm gefärbten Tiere bleiben, bis zum Ende der Larvenperiode, ihren gleich alten, aber ungefärbt gebliebenen Genossen gegenüber um fast ein Drittel der Körpergrösse zurück¹⁾. Auch wird bei ihnen der Eintritt der die Metamorphose einleitenden Veränderungen erheblich verschoben — mindestens um drei Monate; sie sind ausserdem sehr viel empfindlicher und erfordern eine weit grössere Sorgfalt während ihrer Aufzucht. — Ist der Farbstoff (zur Zeit der Metamorphose) aus dem Larvenkörper geschwunden, so wachsen die Tiere ziemlich rasch wieder zu ihrer normalen Grösse heran.

Das dem Neutralrot sehr ähnlich zusammengesetzte Neutralviolett bewirkt eine dem ersteren ganz ähnliche Färbung, der aber ein brauner Ton beigemengt ist. Es ist aber durchaus nicht so unschädlich und kann in stärkerer Lösung direkt tödlich wirken. Auch wird es nur einige Tage hindurch mit

¹⁾ Zum Teil mag das allerdings auch darauf zurückzuführen sein, dass sie nicht so gut ernährt werden können wie ungefärbte Tiere, weil sie das ihnen gereichte Futter infolge ihrer rotgefärbten Cornea weniger gut sehen und danach schnappen können.

der ursprünglichen Intensität behalten, dann blassen die Larven zusehends ab.

Ausserordentlich rasch und intensiv lässt sich aber eine Färbung mit dem Nilblausulfat erzielen (Fig. 9); die Tiere können so tief dunkelblau gefärbt werden, dass sie, aus einiger Entfernung gesehen, vollkommen schwarz erscheinen. Eine so intensive Beladung mit dem Farbstoffe ist allerdings nicht unschädlich, es kann dabei zu Maceration des Epithels, besonders an der Schwanzflosse und im Anschlusse daran zur Atrophie der letzteren kommen. Geringere Färbungsgrade werden leicht ertragen, aber der Farbstoff wird überhaupt nicht lange behalten: In ungefärbtes Wasser gebracht, werden die Larven sehr bald hellblau, dann so grün wie die Nilblauchlorhydratlarven (Fig. 10), um später allmählich auch diese Farbe zu verlieren. Auch hier scheint es sich um Zersetzung oder Resorption des Farbstoffes im Larvenkörper selbst zu handeln, da nichts von ihm, wenigstens in sichtbarer Menge, nach aussen abgegeben wird.

Auch das Nilblauchlorhydrat wird gut vertragen. In warmem Wasser gelöst, liefert es eine violette Flüssigkeit, in welcher die Larven nicht in so reinem Grün gefärbt werden, wie in der kalten, blauen Lösung (Fig. 10). Wie sonst, ist auch hier die Nuance der Färbung nicht an allen Körperstellen die gleiche; ganz besonders scharf hebt sich aber beim Nilblauchlorhydrat, wenigstens bei intensiver Färbung, die violette Farbe des Schwanzes von dem Grün des übrigen Körpers ab (Fig. 10). In reines Wasser gebracht, blassen die selbst bis zum Blau färbbaren Larven rasch bis zu dem in der Figur dargestellten Grün ab, behalten aber diesen Farbenton, im Gegensatze zu den mit dem vorher besprochenen Farbstoffe tingierten Larven, sehr lange völlig unverändert bei, und entwickeln sich dabei in normaler Weise weiter. —

Überblickt man die zuletzt besprochene Gruppe von Farbstoffen in Hinsicht auf ihre biologischen Wirkungen, so fällt

vor allem der Umstand auf, dass sie, einmal in den Larvenkörper eingedrungen, zumeist mit ausserordentlicher Zähigkeit festgehalten werden; obzwar diese Überladung mit dem Farbstoffe für die Tiere in keinem Falle ganz gleichgültig sein dürfte, wird sie doch ohne ersichtlichen bedeutenderen Schaden ertragen und verhindert anscheinend keine der normalen Funktionen. Die Bedeutung dieser Umstände der späteren Erörterung überlassend, müssen wir vorher noch die genauere Kenntniss jener Formen gewinnen, mit welchen die Farbstoffe selbst an die lebende Zelle gebunden sind.

Bei der Beschreibung der histologischen Bilder soll vom Methylenblau (rect.) ausgegangen werden, dessen Wirkungen durch die Figuren 15—23 (Taf. XXXVIII/XXXIX) dargestellt sind¹⁾.

Die Figur 15 entstammt einer Stelle der Kopfhaut, deren oberflächlich gelegene Epithelzellen ziemlich viele Pigmentkörnchen enthielten. Während diese normaler Weise einen braunen bis schwarzen Farbenton besitzen, fällt an denen unserer Larve eine intensive, sattgrüne Färbung auf. Sie ist nicht vielleicht auf den Umstand zurückzuführen, dass die unter der oberflächlichen Epithelschichte gelegenen Zellen von der blauen Farblösung durchtränkt sind und nun die über ihnen befindlichen, normal gebliebenen Pigmentkörnchen über dem blauen Untergrunde grün erscheinen — eine solche Färbung der tieferen Zelllagen ist nicht vorhanden und die Pigmentkörnchen sind auch in einzelnen, isolierten Epithelzellen deutlich grün gefärbt. Es handelt sich also hierbei um eine direkte Umfärbung der Pigmentkörnchen. — In diesen pigmentierten Epithelzellen lassen sich ferner nur bei intensiver Färbung einzelne spärliche Granula nachweisen, welche sich mit dem Methylen-

¹⁾ Bei jedem Farbstoffe wird zunächst die Wirkung auf Larven von Salam. mac., dann auf die der beiden anderen untersuchten Arten besprochen werden

blau blau gefärbt haben. In dieser Zellart besitzen demnach nur die Pigmentkörnchen eine grössere Affinität zu dem Farbstoffe, sie nehmen ihn leicht auf, ändern aber dadurch ihre Eigenfarbe¹⁾.

Im Gegensatze zu dieser Reaktion der pigmenthaltigen Epithelzellen bleiben die pigmentfreien fast völlig unverändert und weisen zumeist gar keine mit dem Methylenblau gefärbte Inhaltseinschlüsse auf. Hiervon macht nur das Epithel der Cornea eine Ausnahme: Seine oberflächliche, vollkommen pigmentfreie Epithelschichte enthält in unregelmässiger Zahl und Anordnung blau gefärbte Granula. —

In der Mitte der soeben besprochenen Figur fällt eine Zelle auf, deren Beschaffenheit der oben gegebenen Darstellung zu widersprechen scheint: Sie enthält zahlreiche, mit Methylenblau intensiv gefärbte Granula. Solche Zellen lassen sich bei aufmerksamer Untersuchung der mit Methylenblau gefärbten Larven an zahlreichen Regionen der Haut nachweisen. Sie heben sich durch die hellere Beschaffenheit ihres Zelleibs, sowie ganz besonders durch ihre grossen, regelmässigen und hellblau gefärbten Granula von ihrer Umgebung gut ab. Eine nähere Untersuchung ergibt, dass es sich um Zellen handelt, welche unter der oberflächlichen Epithellage von Stelle zu Stelle eingeschoben sind, oft eine Flaschenform besitzen und dann mit ihrem dem Flaschenhalse entsprechenden Anteile sich zwischen die oberste Zelllage²⁾ einschieben. Sie sind vollkommen frei von Pigmentkörnchen und besitzen einen, oft beträchtlich grossen,

1) O. Schultze giebt an, dass bei Frosch- und Tritonlarven der Farbenton der dunklen Pigmentkörnchen in den verästelten Zellen der Haut stellenweise ein blauschwarzer, der der grünen Pigmentzellen ein hellblauer wird. Auch in anderen Punkten (Aufquellung und Verschmelzung der Granula u. a.) weichen seine Angaben etwas von den meinigen ab. Es wird das wohl auf den Unterschied des Materiales und der Intensität der Färbung zurückzuführen sein.

2) Auf den Figuren sind sie mitten in diese selbst gezeichnet, da es sich hier um Flächenbilder handelt.

regelmässig geformten Zellleib. Ihr Vorkommen und ihre Ausbreitung in den einzelnen Hautbezirken sind ganz gesetzmässig. Sie fehlen an jenen Stellen, welche Flimmerzellen besitzen, gänzlich, erscheinen daher auch erst in jener Larvenperiode, in welcher das ursprünglich allgemeine Flimmerepithel an den meisten Körperstellen zu verschwinden beginnt. Dann aber findet man sie nicht nur an jenen Orten, an welchen die oberste Epithellage Pigmentkörnchen führt, sondern auch an pigmentfreien Hautregionen. Die Figur 17 stellt ein Stück der Haut des Mundbodens dar; während die pigmentfreien Zellen dieses Hautbezirkes bei dieser Färbung keine blauen Granula aufweisen, tritt die beschriebene Zellart durch den Gehalt an solchen deutlich, in zahlreichen Exemplaren, hervor (SZ). Da auf verschiedene Ebenen ihres Durchmessers eingestellt ist, erscheinen sie verschieden gross und kreisförmig oder oval, stets aber regelmässig abgerundet konturiert. Auch die Grösse der Granula variiert nicht unerheblich, wie auch ihr Farbenton Differenzen aufweisen kann; stets aber sind sie kreisrund.

Es sei gleich hier hervorgehoben, dass sich diese Zellart mit allen Zellgranula färbenden Stoffen stets in ganz charakteristischer Weise von ihrer Umgebung abhebt und auf diese Weise überall bequem nachweisen lässt, während dies an fixierten Präparaten weit weniger, wenn überhaupt, möglich ist. Sie ist allem Anscheine nach analog jenen Zellen, die bereits Langerhans beschrieben hat und zwar als helle Elemente, welche sich zwischen die Polygone der oberflächlichen Plattenepithelien einschieben sollen. In Wirklichkeit ist es, wie erwähnt wurde, nur ein Fortsatz ihres tiefer gelegenen Zellleibs, der sich, und zwar wahrscheinlich nur bei besonderen funktionellen Zuständen derselben, zwischen die oberflächlichen Zellen vordrängt. In diesen sogen. Schaltzellen vermag nun Pfitzner, der nach Langerhans der Epidermis der Amphibien eine sorgfältige Untersuchung

gewidmet hat, eine besondere Zellart nicht zu erkennen. Sie sollen, nach ihm, bei Salamanderlarven am besten im ersten Monat entwickelt sein und sich nur durch das Überwiegen ihres senkrechten Durchmessers von den übrigen Epithelzellen unterscheiden; doch sei auch dieser Unterschied ein vorübergehender, da sie sich bald in gewöhnliche Epithelzellen umwandeln sollen. Dem gegenüber¹⁾ ist jedoch zu betonen, dass die Schaltzellen, wenn auch nicht während der ganzen, so doch während des grössten Teiles der Larvenperiode nachzuweisen sind und dass sie sich, wenn auch morphologisch nicht besonders, so doch sicherlich chemisch, wie ihr Verhalten zu Farbstoffen beweist, ganz wesentlich von ihren Nachbarzellen unterscheiden und eine ganz besondere Zellart repräsentieren. Ob sie sich im weiteren Gange der Entwicklung in gewöhnliche Epithelzellen umwandeln, vermag ich, da ich scheinbaren, rein morphologischen Übergangsformen im Allgemeinen sehr skeptisch gegenüberstehe, nicht zu entscheiden. Doch ist es richtig, dass die Zahl dieser Zellen gegen das Ende der Larvenperiode hin abnimmt und sie daher vielleicht eine Metamorphose in dem obigen Sinne erfahren. An gewissen Stellen dagegen scheinen sie sich, worauf noch hingewiesen werden wird, zu erhalten und sich zu vermehren.

Die von einer pigmentierten Stelle der Rumpfhaut stammende Figur 16 zeigt gleichfalls Schaltzellen. Von besonderem Interesse ist sie jedoch für uns durch den Umstand, dass sie einige der intraepithelialen Pigmentzellen (P) darstellt. Auch sie erscheinen in tiefem Sattgrün, das um so dunkler ist, je mehr

¹⁾ Vorausgesetzt, dass überhaupt die von Langerhans und Pfitzner gemeinten mit den von mir durch vitale Färbung zur Darstellung gebrachten Zellen ganz identisch sind, was möglicherweise gar nicht der Fall ist. — F. E. Schultze hat die von Langerhans beschriebenen Zellen — in ganz ungerechtfertigter Weise — in eine genetische Beziehung zu den Leydig'schen Zellen gebracht und ihnen ferner eine Rolle bei dem Häutungsprozesse zugewiesen.

Pigmentkörnchen neben (oder über) einander liegen. Die den Kern bergende Region der Zelle zeichnet sich, da sie am wenigsten Pigmentkörnchen enthält, durch ihre hellere Färbung vor den übrigen aus. Dort jedoch, wo die Pigmentkörnchen, einen dichten Klumpen bildend, in grosser Menge über einander liegen, resultiert, infolge der völligen Absorption der Lichtstrahlen, Schwarzfärbung der Zelle, wie z. B. in Figur 19: Sie stammt von einer Larve, bei welcher die Fortsätze der intraepithelialen Pigmentzellen durch intensive Bleichung zum Verschwinden gebracht wurden und nur ihr Zellkörper sichtbar blieb (P). Dieser erscheint dort, wo die Pigmentkörnchen dicht zusammengeballt liegen, schwarz, dort, wo sich nur wenige finden, grün gefärbt. Es scheint übrigens auch das Plasma der Zellen selbst ganz leicht (grün) gefärbt zu sein.

Die soeben erwähnte Figur stellt jenes Bild dar, das sich bei Einstellung auf die tiefer gelegene Epithelschicht bietet. Hier treten besonders die Leydig'schen Zellen hervor. Sie nehmen, wie aus der Figur ersichtlich, das Methylenblau nur vereinzelt auf; zwar lässt sich durch konzentriertere Lösungen auch eine intensivere Farbstoffaufnahme von Seite dieser Zellen erzielen, doch ist auch sie keine so gleichmässige wie bei den anderen noch zu besprechenden Substanzen. Bei mässiger, die Larven nicht schädigender Färbung sind, wie in der Figur, nur einzelne, verschieden grosse, blaue Inhaltsmassen zu konstatieren, in anderen Fällen eine diffuse Blaufärbung des gesamten Inhaltes der Leydig'schen Zellen. Die Aufnahme des Methylenblaus von Seite der Mucingranula erfordert anscheinend einen ganz bestimmten chemischen (funktionellen) Zustand derselben. Dafür spricht auch der Umstand, dass der Farbenton, von welchem diese Aufnahme gefolgt ist, ein ungemein variabler ist. So sind in Fig. 20 die Granula in der oberen der beiden dargestellten Leydig'schen Zellen violett, eines fast schon rot, die der unteren teils blau, teils violett gefärbt. Es variiert also

nicht nur Zahl und Form der den Farbstoff annehmenden Gebilde, sondern auch die Färbungsart selbst, es handelt sich oft um eine Metachromasie.

Die Konturen der zwischen den Leydig'schen befindlichen übrigen Zellen der tieferen Epithelschichte sind hier nicht sichtbar, da diese feinen Grenzlinien durch die über ihnen gelegene Zelllage, durch welche hindurch sie betrachtet werden müssen, verschleiert werden. Doch lassen sich diesen Zellen entsprechend Anhäufungen blauer Körnchen (Z Z) nachweisen. Die Affinität auch dieser Zellelemente zum Methylenblau ist jedoch, wie diejenige der Mucingranula der Leydig'schen Zellen, eine weniger intensive als zu anderen später zu besprechenden Farbstoffen; nur einige, durchaus nicht alle von ihnen, nehmen den Farbstoff an.

Auf den beiden zuletzt besprochenen Figuren sind auch Hautsinnesorgane dargestellt. Die an der freien Seite ihrer Zellen befindlichen Granula sind durch das Methylenblau grün gefärbt worden. Ausserdem aber finden sich bei stärkerer Färbung in dieser Zellart auch blaue Granula vor. — Die Fig. 20 enthält ferner in ihrem oberen Abschnitte eine der subepithelial gelegenen Pigmentzellen; diese letzteren verhalten sich, wie ersichtlich, vollkommen den intraepithelialen analog, d. h. auch ihre Pigmentkörnchen haben durch den Farbstoff eine Umfärbung (zu grün) erlitten. —

In ganz ähnlicher Weise wie die Epithelzellen von *Salamandra mac.* reagieren die von *Rana temporaria*. Die Fig. 21 giebt einen Epithelbezirk vom Schwanze wieder; die Zellen enthalten durchwegs sehr viele kleinste Pigmentkörnchen, und da auch sie eine Umfärbung in Grün erlitten haben, so erscheinen die in ihren Dimensionen beträchtlich von einander verschiedenen Zellen im Ganzen grün gefärbt. In einigen allerdings (vgl. die Figur) kann man unregelmässige blaue Flecke wahrnehmen. Nach ihrer Form und Färbung scheinen sie in

den Zellen eingeschlossenen Flüssigkeitsmengen zu entsprechen, welche den Farbstoff aufgenommen haben. Zwischen diese Zellen des Hautepithels sind überall solche eingesprengt, welche sich durch besonders starke Pigmentierung auszeichnen — demgemäss erscheinen sie auch dunkler grün, bis schwarz. Sie besitzen, wie bereits bekannt ist, zahlreiche Flimmerhaare.

In keiner der beiden Zellarten sind jedoch ausser den Pigmentkörnchen andere Elemente (Dotterplättchen, Zellgranula u. a.) mit dem Methylenblau gefärbt. Sie verhalten sich ihm gegenüber passiv. Auch Schaltzellen konnten in dem untersuchten Stadium nicht nachgewiesen werden. —

Die Larven von *Siredon piscif.* lassen sich in derselben Weise wie die von *Salamandra mac.* bleichen, wenn das auch nicht immer an allen Exemplaren gleichzeitig gelingt. Im Übrigen aber enthalten ihre Epithelzellen, wenn überhaupt, sehr viel weniger Pigmentkörnchen, als die der beiden anderen Larvenarten. Da aber der Farbstoff auch hier nur von den Pigmentkörnchen angenommen wird, so scheinen die Epithelzellen gegenüber den normalen völlig unverändert zu sein (Fig. 18). An einzelnen Hautbezirken lassen sich zwischen den völlig ungefärbten auch solche Zellen nachweisen, welche intensiv blau gefärbt regelmässig geformte Granula enthalten (Fig. 18) und welche auch etwas tiefer als die übrigen zu liegen scheinen. Es sind Gebilde, welche vollkommen den Schaltzellen bei *Salam. mac.* entsprechen.

Ganz analog denen von *Salam mac.* verhalten sich auch die Pigmentzellen von *Siredon pisc.* Eine intraepitheliale Pigmentzelle (und zwar vom Kiemenepithel) stellt die Fig. 22 dar. Die grüne Färbung der Pigmentkörnchen tritt hier sehr deutlich hervor, da sie sich von dem farblosen Untergrunde gut abhebt. Durch einen Umstand unterscheiden sich aber diese Zellen, öfter wenigstens, von ihren Genossen bei *Salam. mac.*: Durch den, allerdings wechselnden, Gehalt an blauen Granulis in ihrem

Zelleib (weniger in den Fortsätzen)¹⁾. — Zwei subepitheliale Pigmentzellen sind in der Fig. 23 abgebildet. Die eine hat durch das Methylenblau eine intensive Grünfärbung ihrer Pigmentkörnchen erfahren, die andere ist vollkommen unverändert geblieben. Diese beiden Zellen repräsentieren die beiden, sowohl bei Siredon, wie bei Salamandra sich vorfindenden Arten subepithelialer Pigmentzellen, welche sich scharf von einander unterscheiden. In einer früheren Arbeit (43) habe ich Reinke gegenüber, welcher behauptete, dass die eine der beiden Zellarten in die andere übergehe, hervorgehoben, dass es sich hier um zwei völlig von einander verschiedene Zelltypen handelt, zwischen denen sich keine Übergangsstufen nachweisen lassen und die sich ausserdem, ihrer physiologischen Reaktion nach, wesentlich von einander unterscheiden: Während die einen, und zwar diejenigen mit braunen Pigmentkörnchen, die sich mit Methylenblau grün färben lassen, durch Licht- und Wärmeeinfluss zu mehr oder minder kugelförmigen Klumpen sich kontrahieren, verhalten sich die anderen (die mit mehr gelblichen Einschlüssen) den gleichen Einflüssen gegenüber vollkommen indifferent. Diesen Unterschieden beider Zellarten vermag ich, nach dem Gesagten, nunmehr auch noch die Verschiedenheit ihrer chemischen Natur hinzuzugesellen: Ihr ungleiches Verhalten demselben Farbstoffe gegenüber.

Ergänzend sei am Schlusse noch darauf hingewiesen, dass nach der Methylenblaufärbung auch in den Muskelzellen und Darmepithelzellen blaue Granula auftreten. Es ist dies schon bekannt. Bei Fröschen hat Arnold die Granula im Muskel vor kurzem beschrieben und diejenigen der Darmzellen waren schon O. Schultze bekannt.

¹⁾ Mit Methylenblau sich färbende Granula hat Arnold in den Pigmentzellen des Mesenteriums des Frosches beschrieben und abgebildet. Die Reaktion unterscheidet sich aber hier wesentlich von der oben beschriebenen.

Die histologischen Bilder, welche die mit Bismarckbraun gefärbten Larven darbieten, sind in mancher Hinsicht wesentlich von den bisher besprochenen verschieden (Fig. 24—34, Taf. XL/XLI).

Untersucht man zunächst eine Hautregion, deren Zellen zahlreiche Pigmentkörnchen enthalten, so ist eine Verfärbung der letzteren nicht wahrzunehmen; sie verhalten sich also dem Bismarckbraun gegenüber vollkommen passiv. Während aber beim Methylenblau keine Färbung besonderer Granula in der erwähnten Zellart nachzuweisen ist, lassen sich jetzt — wie auch, mit den entsprechenden Farbtönen, bei allen folgenden Farbstoffen — in jeder der Zellen mehrere hell- bis dunkelbraun gefärbte Granula konstatieren. Noch viel deutlicher und zahlreicher treten dieselben an pigmentfreien Epithelzellen zu Tage, wie solche (von Salam. mac.) in Fig. 24 abgebildet sind. Hier enthält jede der Zellen zahlreiche kleinste, hellbraun gefärbte Körnchen. — Wie mit dem Methylenblau so lassen sich auch mit dem Vesuvin die Schaltzellen als besondere Zellformen darstellen (Fig. 25), besonders dann, wenn der Färbungsgrad des betreffenden Hautstückes ein sehr geringer ist. Während in diesem Falle die eben erwähnten Körnchen in den Epithelzellen noch nicht gefärbt sind, haben die Granula in den Schaltzellen den Farbstoff bereits gierig an sich gezogen (Fig. 25) und treten daher sehr deutlich hervor. — Wird nun etwas intensiver gefärbt, so werden auch zahlreiche andere Granula dunkel tingiert (Fig. 26 u. 27). Ausserdem tritt aber eine sehr merkwürdige Erscheinung zu Tage: Jede untersuchte Hautstelle erweist sich förmlich durchspickt mit einer Menge verschieden dicker, braun bis schwarz gefärbter Krystallnadeln. Auch die Cornea bleibt von ihnen nicht verschont. Die Fig. 26 giebt in ihrer oberen Hälfte das Bild wieder, welches die oberflächliche Epithelschicht der Hornhaut einer solchen Larve darbietet. Wir sehen hier überall, teils zwischen, teils — dies konnte hier wie auch noch anderwärts mit

voller Sicherheit festgestellt werden — in den Zellen selbst gelegene Krystallnadeln; und der gleiche Befund ergibt sich, wenn man auf die Tiefe des Hornhautepithels (untere Hälfte der Fig. 26) einstellt. Dass die Krystallnadeln in den Zellen selbst gelegen sind, ergibt sich noch viel klarer aus der folgenden, einer Hautstelle vom Kopfe entstammenden Fig. 27. Sie finden sich hier auch in den Zellen der Hautsinnesorgane und richten sich in ihrer Stellung ziemlich genau nach dem Längsdurchmesser der Zellen, während sie in den gewöhnlichen Epithelzellen der Haut und der Cornea oft unregelmässig gegeneinander verschoben und gekreuzt liegen. — Auch die Leydig'schen Zellen entbehren ihrer, wie Fig. 30 zeigt, nicht; ganz besonders zahlreich aber und in regelloser Weise zu einander gestellt enthalten sie die Schaltzellen (S Z), und es ist dieser besondere Reichtum an Vesuvinnadeln geradezu ein für diese Zellart charakteristisches Merkmal. Die Fig. 30, welche diese Verhältnisse darstellt, entstammt der pigmentfreien Haut des Mundbodens; die betreffende Larve war in eine zwar starke Lösung, aber nur für ganz kurze Zeit, gesetzt worden: Während sich die Granula in den Epithelzellen noch nicht gefärbt haben, kam es in den beiden letzterwähnten Zellarten bereits zur Bildung der Nadeln, deren Zahl durch intensivere Färbung, namentlich in den Schaltzellen, sich bedeutend hätte vermehren lassen.

Liesse es sich nicht schon durch die genaue mikroskopische Untersuchung sicher feststellen, dass die Nadeln wirklich in den Zellen selbst liegen, so würde auch schon ihr Verhalten in der soeben besprochenen wie in der Fig. 27 hierfür sprechen: Die Länge der Nadeln richtet sich nämlich genau nach der Grösse jener Zellen, in welchen sie eingeschlossen sind. Sie sind klein in den Epithel- und Schaltzellen, grösser in den Leydig'schen, am grössten aber in den Hautsinnesorgan-Zellen. Liegen sie dagegen zwischen den Zellen, wie in Fig. 29, so können sie die verschiedensten Stellungen einnehmen und be-

deutende Längen erreichen, da sie jetzt hieran weit weniger als innerhalb der Zellkörper gehindert werden.

Über die Natur dieser Krystallnadeln vermag ich nichts Bestimmtes auszusagen. In den Farblösungen von der verwendeten Konzentration konnten sie nicht nachgewiesen, auch nicht durch Zusatz von Säure oder Lauge aus ihnen ausgefällt werden. Sie stellen also wahrscheinlich eine Verbindung des Bismarckbraun mit einem die Zellen und Zellzwischenräume ausfüllenden Körper, vielleicht eine Eiweissverbindung dar, deren chemische Zusammensetzung noch zu ergründen ist.

Eigenartig ist das Verhalten, das die Leydigischen Zellen dem Bismarckbraun gegenüber darbieten. Im ersten Stadium der Färbung, besonders dann, wenn starke Lösungen verwendet wurden, erhält man ein Bild von ihnen, das — allerdings in sehr unvollkommenem Grade — die Fig. 28 wiederzugeben sucht. Die beiden hier gezeichneten Leydigischen Zellen sind im Ganzen leicht gelb gefärbt; von diesem gelben Farbenton hebt sich eine grosse Anzahl tief dunkelbraun gefärbter Striche ab. Bei starker Vergrösserung und bei Einstellung auf verschiedene Ebenen stellen sie sich als die jeweilig in dem betreffenden Gesichtsfelde liegenden Abschnitte von Ringen dar, welche, verschieden gross und in verschiedenster Weise gegen einander gelagert, ein ausserordentlich zierliches und schwer in seine Einzelemente entwirrbares Bild ergeben; da die Zeichnung naturgemäss nur eine einzige Gesichtsfeld-Ebene berücksichtigen kann, so vermag sie nur ein sehr unvollkommenes Bild des thatsächlichen Verhaltens zu bieten. Die Leydigischen Zellen sind bekanntlich von einer sehr zarten, regelmässig „gefensterten“ Membran umgeben; man könnte danach daran denken, dass die beschriebenen Ringe den Ausguss der Netzzeichnung dieser Membran darstellen. Dagegen spricht schon der Umstand, dass sie in diesem Falle weniger zahlreich und gleichmässiger sein müssten; die genauere Untersuchung ergibt

aber ausserdem, dass sie unter der Membran, also in den Zellen selbst gelegen sind. Untersucht man ferner die betreffenden Zellen einige Tage nach vollzogener Färbung, so vermag man diese Ringe nicht mehr in ihnen nachzuweisen; sie sind verschwunden, dagegen sind die sogenannten Mucingranula der Leydig'schen Zellen selbst in der in Fig. 29 dargestellten Weise gleichmässig gelb gefärbt. Nach diesem Verhalten, sowie nach der Art und Lage der Farbringe, ist ihre Entstehung, aller Wahrscheinlichkeit nach, die folgende: Der Farbstoff, der in die Leydig'schen Zellen gelangt, vermag die Mucingranula nicht sofort zu durchtränken; er bleibt eine Zeit lang entweder ausserhalb, und zwar unmittelbar um die Granula herum liegen, oder aber er dringt in das Granulum ein, wird aber in dem Randeile des letzteren, durch die besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften desselben, bei seinem Vordringen aufgehalten und daher konzentriert; auf diese Weise könnte es zur Bildung der Farbringe kommen. Im weiteren Verlaufe der Färbung jedoch dringt der Farbstoff in das Granulum selbst ein und tingiert es in ganz gleichmässiger Weise, aber natürlich mit einer geringeren Intensität als früher den Randeil allein.

Ausser den Leydig'schen sind in der Fig. 29 auch noch die zwischen ihnen gelegenen Zellen (ZZ), durch ihnen entsprechende Anhäufungen dunkelbraun gefärbter kleiner Granula kenntlich, ähnliche Körnchen finden sich auch an der freien Seite der Zellen der Hautsinnesorgane.

In den Epithelzellen der Haut der untersuchten Exemplare von *Siredon piscif.* liessen sich nur vereinzelt Granula mit Bismarckbraun darstellen. Dagegen färbten sich die embryonalen Bindegewebszellen in derselben Weise wie mit dem Neutralrot (s. dasselbe). — Den Larven aller untersuchten drei Amphibienarten gemeinsam waren ferner folgende Reaktionen dem Vesuvium gegenüber: Das Auftreten färbbarer Körnchen in und zwischen den Muskelfasern, das noch beim Neutralrot be-

sprochen werden soll; ferner die Färbung kleinster Körnchen in den Zellen des hyalinen Knorpels¹⁾. Diese liegen, wie aus Fig. 31 ersichtlich ist, zunächst in einfacher Schichte rings um den Kern; ausserdem aber findet sich in jeder der Zellen, an einer verschieden orientierten Stelle eine grössere Anhäufung derselben und endlich stösst man hin und wieder, auch mitten in der Grundsubstanz selbst, auf grössere, unregelmässig gestaltete Massen, welche vom Vesuvium intensiv braun gefärbt erscheinen (in der Figur an zwei Stellen). Ähnliche Bilder wie die Knorpelzellen liefern die Blutkörperchen und Endothelzellen (Fig. 33, Bl und E). In beiden lassen sich kleine Gruppen intensiv gebräunter Körnchen nachweisen. Speziell die Granula der roten Blutkörperchen sind wohl analog denjenigen, die, unter verschiedener Benennung und Auffassung von Bremer, Dehler, Horsley u. a.²⁾ vorwiegend an fixierten Präparaten beschrieben wurden. Der erstere, der die Körnchengruppe ursprünglich als Paranuklearkörperchen bezeichnete, hat sie später, im Anschlusse an Dehler, als das Centrosoma der Erythrocyten angesprochen, eine Deutung, die wohl nicht zu halten ist. Horsley wies sie mit Methylenblau, S. Mayer mit Neutralrot nach.

Das Bismarckbraun wird von Siredonlarven, wenn sie nur schwach gefärbt waren, nach einiger Zeit in geringer Menge abgegeben. Ausserordentlich lange behalten es die embryonalen Bindegewebszellen, wobei der Farbenton ihrer Granula mehr rotbraun wird.

Eines eigentümlichen, an den Kiemen der Amphibienlarven ganz konstant wiederkehrenden Befundes sei noch zum Schlusse

1) Körnchen in den Knorpelzellen sind schon von Schultze, Mayer und Arnold, und zwar nach Methylenblau und Neutralrotfärbung gesehen worden.

2) Die litterarischen Nachweise über ältere ähnliche Befunde von Ranvier, Hayem, Arndt und Neumann finden sich bei Bremer und Horsley, ferner bei Galeotti; ich kann hier auf die Litteratur nicht genau eingehen.

gedacht. In Figur 32 ist ein Kiemenfaden von *Siredon piscif.* dargestellt; die oberflächlichen, flimmernden Epithelzellen bleiben nach der Färbung der Larve völlig durchsichtig und sind daher — bis auf den Randteil — nicht gezeichnet, ebensowenig das unter ihnen gelegene, von reichlichen Gefässen durchzogene Netz von Bindegewebszellen¹⁾, wohl aber die schwarzen und gelben Pigmentzellen. Mitten im Gewebe der Kiemenfäden findet man nun, nach der Behandlung mit den verschiedensten Stoffen, mit diesen letzteren intensiv gefärbte unregelmässige Massen (bei \times in der Figur), welche verschiedenste Grössen besitzen. Über ihre Natur vermag ich nichts Sicheres nachzuweisen. Es stehen aber diese Befunde vielleicht in einer gewissen Beziehung zu Thatsachen, welche von Dohrn und Schwalbe ermittelt wurden. Der erstere fand, dass sich bei Selachierembryonen in den Wurzeln und Stämmen der hinteren Kiemenvenen „eine durch Karmin gelbrötlich gefärbte Masse“ vorfindet und „dass die ganzen äusseren Kiemenfäden mit einer Dotteremulsion angefüllt waren, in welcher die Blutgefässe nicht nur suspendiert waren, sondern von der jedes sich angefüllt zeigte“. Schwalbe wiederum fand bei Schnitten durch die Kiemen von Salamanderlarven häufig, „namentlich innerhalb des Kiemenkörpers feinkörnig geronnene, durch Karmin leicht tingierte Massen, die aber durch den Mangel an Dotterplättchen und Fettkügelchen die Meinung, als seien sie etwa durch die Thätigkeit der Kiemen selbst aus dem umgebenden Dotterbrei aufgenommen, widerlegten“. Solche vom Farbstoff intensiv gefärbte Massen lassen sich in der That auch an fixierten Präparaten nachweisen. Es handelt sich demnach um Körper, welche sowohl in fixiertem, wie in frischem Zustande eine ausserordentliche Affinität zu Farbstoffen besitzen und die vielleicht, nach den obigen Angaben, aus zersetztem Blute (und seinen Zellen) hervorgegangen sind.

¹⁾ Im Präparate sind die Granula der letzteren gefärbt.

Die Epithelzellen der Haut von *Rana temporaria* verhalten sich wesentlich anders als die von *Siredon piscif.* Bei ihnen färben sich schon in ganz schwachen Lösungen in fast allen Zellen gewisse Granula (Figur 34). Diese unterscheiden sich durch ihre hellgelbe Farbe sehr gut von den dunklen, unverändert gebliebenen Pigmentkörnchen dieser Zellen. Je pigmentierter die letzteren sind, desto weniger färbbare Granula scheinen sie zu enthalten. Es färben sich aber stets nur einige, nicht alle in den Zellen sichtbare Granula, wiewohl sie sich im ungefärbten Zustande weder durch verschiedene Grösse und Form, noch durch sonstige Umstände von einander unterscheiden. Bei dem Zustandekommen histologischer Färbungen (allerdings fixierter Präparate) spielt, nach Fischer, die verschiedene Grösse der Granula, eine bedeutsame Rolle. Hier aber sind Granula gleicher Grösse theils gefärbt worden, theils farblos geblieben. Die Färbung ist also eine elektive, nur Granula einer bestimmten Art nehmen den Farbstoff an, bezw. weisen sie ihn zurück. —

Wenn ich nunmehr an der Hand einiger Figuren zur Besprechung der Wirkungen des zur vitalen Färbung ganz besonders günstigen und wohl die schönsten Bilder liefernden Neutralrot übergehe, so möchte ich zunächst gleich von vornherein bemerken, dass hier ganz besonders, noch mehr als bei den anderen Farbstoffen, keine Zeichnung die ausserordentliche Schönheit eines gelungenen Präparates ganz wiederzugeben vermag. Wie sich das Bild eines mit Neutralrot (an der lebenden Larve) gefärbten Hautstückes bei schwacher Vergrösserung präsentiert, davon kann annähernd die Figur 57 auf Taf. XLII/XLIII eine Vorstellung geben. Durch die oberflächliche, von zahlreichen kleinen Granulis dicht erfüllte Zelllage leuchten hier die intensiv gefärbten Zellkörper der Leydigschen Zellen hervor; an ein-

zelen Stellen durchbrechen die zart rosa gefärbten Hautsinnesorganzellen das lebhaftes Rot der obersten Epithellage, von welchen sich die schwarz gebliebenen intra-¹⁾ und subepithelialen Pigmentzellen scharf abheben. (Die Granula der Schaltzellen sind an diesem Präparate blau gefärbt, worüber noch Näheres berichtet werden wird.) Dieses Bild erleidet an den verschiedenen Hautbezirken mancherlei Variationen; denn einmal wechselt bei ihnen Zahl und Anordnung der Leydig'schen und der Pigmentzellen, sowie der Hautsinnesorgane; ferner aber ist auch das färberische Verhalten der oberflächlichen Epithellage selbst an verschiedenen Körperstellen ein verschiedenes, an derselben Stelle aber ein konstantes. Schon an der ungefärbten Larve lässt sich zeigen, dass die Grösse und der Pigmentgehalt dieser Zellen an verschiedenen Hautstellen verschieden sind, wofür ich früher (46) einige Beispiele beigebracht habe. Diesen Verschiedenheiten stehen analoge, für die betreffenden Hautregionen aber konstante Variationen der Granulierung zur Seite.

Den einen dieser Typen der Granulierung giebt die Fig. 35 (Taf. XLI) wieder, das Bild einer vor und unter dem Auge befindlichen Hautregion. Der Granulierung nach kann man hier zwei Zellarten unterscheiden. Bei der einen erfüllen die mit dem Neutralrot gefärbten, fast gleich grossen und runden Granula den Zelleib nahezu vollständig und lassen nur seinen peripherischen Anteil frei; bei der anderen umgiebt ein peripherischer Ring von Körnchen eine centrale, von ihm durch einen verschieden breiten Zwischenraum getrennte, Granulagruppe. Dieser letzte Typus kann an einer Hautregion (z. B. zumeist unter und hinter dem Auge) auch ausschliesslich vorhanden sein; da dies aber nicht bei allen Larven oder zu allen

¹⁾ Zwischen ihren ungefärbt gebliebenen Pigmentkörnchen lassen sich übrigens bei günstiger Lage der Zellen und entsprechend starker Vergrösserung feinste, rot gefärbte Granula nachweisen.

Zeiten der Fall ist, vielmehr dieselbe Hautregion, zu einer gewissen Zeit untersucht, auch den anderen Typus aufweisen kann, und endlich beide Typen (wie auch in der Figur) gleichzeitig neben einander vorkommen können, so ist es wahrscheinlich, dass sie nicht zwei von einander verschiedenen Zellarten, sondern nur zwei verschiedenen Funktionszuständen einer und derselben Zellart entsprechen.

Eine besondere Form der Granulierung weisen die im Hautepithel sich findenden Flimmerzellen auf. In Bezug auf die Topographie der, Flimmerzellen enthaltenden Bezirke verweise ich auf meine bezüglichen früheren Angaben und will hier nur jene Region näher besprechen, welche diese Verhältnisse am besten demonstriert.

Es ist das jene um die Nasenöffnung befindliche, reich mit Flimmerzellen durchsetzte, kreisförmige Zone, deren schon bei den Violettfarben Erwähnung geschah. Das Bild, das sie bei schwacher Vergrößerung darbietet, ist in Fig. 46 (Taf. XLII) wiedergegeben. Sie setzt sich, wie ersichtlich, aus zwei Zellarten zusammen; die eine bildet bei der gewählten Vergrößerung gleichmässig und intensiv rot gefärbte Polygone, während die Elemente der anderen sich durch ihre helle Farbe scharf von der ersteren abheben. Alle diese hell erscheinenden Zellen sind, wie die Untersuchung mit starker Vergrößerung lehrt, Flimmerzellen. Ihre Zahl nimmt von der Peripherie der Kreiszone gegen die Nasenöffnung (N) hin zu, die letztere selbst enthält bereits durchwegs flimmernde Zellen. Die stark rot gefärbten Zellen dagegen sind die gewöhnlichen flimmerlosen Epithelzellen. — Diese verschiedene Reaktion der beiden Zellarten des Hautepithels lässt sich nicht nur beim Neutralrot, sondern bei allen vital (d. h. Granula) färbenden Stoffen nachweisen; stets nehmen die Flimmerzellen den Farbstoff weniger auf als die übrigen Epithelzellen. — Bei entsprechend starker Vergrößerung untersucht zeigt es sich (Fig. 36, Taf. XLI), dass auch die Flimmerzellen

der das Neutralrot (oder andere vitale Farbstoffe) annehmenden Granula nicht entbehren. Allein sie sind in weit geringerer Menge als in den übrigen Zellen vorhanden und liegen überdies nur in einer tieferen, den Kern ringförmig umgebenden Zone des Zelleibs. Ausserordentlich zahlreich sind dagegen die Granula der übrigen Zellen; die in Fig. 36 dargestellte Menge derselben ist eine viel zu geringe, in Wirklichkeit liegen (was zeichnerisch nicht wiederzugeben war, da sonst die Farbenpunkte in einander geflossen wären) die Granula vollkommen dicht aneinander, so dicht, dass sie den Zelleib fast vollständig auszufüllen scheinen und jedenfalls nur eine äusserst geringe Menge von Zwischensubstanz ausser ihnen vorhanden sein kann. Im Gegensatz zu den Flimmerzellen ist demnach der Körper dieser Zellart nahezu vollständig von einer in Granulaform angeordneten Substanz erfüllt, welche zu den vital färbenden Stoffen die lebhafteste Affinität besitzt. Jenen Stoffen gegenüber, welche keine Granula färben, wie z. B. die Violettfarben, verhalten sich dagegen diese beiden Zellarten, wie bereits mitgeteilt wurde, gerade umgekehrt: Die Flimmerzellen werden von ihnen intensiver, aber nur diffus (nicht durch Hervorhebung bestimmter Zellelemente) gefärbt. Es ist dies vielleicht darauf zurückzuführen, dass die Farbstoffe der letzteren Art nur die zwischen den Granulis enthaltene, also in den granulaarmen Flimmerzellen reichlichere Zwischensubstanz tingieren, während diese von den granulafärbenden Stoffen unbeeinflusst bleibt.

Der linke Randabschnitt der Fig. 46 weist übrigens keine Flimmerzellen, sondern nur die intensiv gefärbte Zellart auf. Im Anschluss an die erwähnte kreisförmige Zone um die Nasenöffnung besteht nämlich das nach vorne (gegen die Schnauze) zu gelegene Hautgebiet durchwegs nur aus dieser besonderen, den Epithelzellen an anderen Körperstellen auch an Grösse — im Flächenbilde wenigstens — nachstehenden Zellart. — Sowohl

in ihr wie auch in den Flimmerzellen finden sich Pigmentkörnchen vor, die jedoch über den Granulis, dicht unter der freien Zelloberfläche liegen. Die Menge dieser Körnchen ist an dieser Hautregion, auch an ungebleichten Larven, keine bedeutende, namentlich die Flimmerzellen enthalten, wie auch sonst, nur wenige und etwas tiefer¹⁾ als bei der anderen Zellform gelegene Pigmentkörnchen. Im Allgemeinen lässt sich — von der besonderen Reaktion der Flimmerzellen abgesehen — sagen, dass zwischen dem Gehalt einer Zelle an Pigmentkörnchen und an färbbaren Granulis eine Wechselbeziehung in dem Sinne besteht, dass der Reichtum an Zelleinschlüssen der einen mit Armut an solchen der anderen Art verbunden ist. Während die pigmentkörnchenarme Zellart in der Umgebung der Nasenöffnung ausserordentlich viele Granula enthält, weisen die pigmentreicheren Zellen der Fig. 40 (Taf. XLI), welche einer über und hinter dem Auge gelegenen Hautstelle entstammen, eine weit geringere Zahl derselben auf. Mitten unter ihnen fällt eine pigmentfreie, durch ihre Form und durch ihre besondere Granulierungsart auch beim Neutralrot sich scharf charakterisierende Schaltzelle auf.

Noch pigmentreicher und demgemäss auch granulaärmer sind die Zellen der beiden, Hautstellen des vorderen Teiles des Rumpfes entstammenden Figuren 42 und 43. An den in ihrer Mitte dargestellten durch ihren Pigmentgehalt völlig schwarz erscheinenden Zellen ist auch bei Einstellung auf die verschiedensten Ebenen kein einziges gefärbtes Granulum wahrzunehmen. Diese, allerdings ziemlich seltenen Gruppen abnorm stark pigmentierter Zellen finden sich stets in der in den beiden Figuren gezeichneten Form und Lage vor: Zwei oder drei grössere, aber ihren normal pigmentierten Nachbarn doch noch an Grösse beträchtlich nachstehende, sehr stark pigmentierte

1) Sie liegen unter den Basalkörperchen der Flimmerhaare.

Zellen umgeben eine aus ungewöhnlich kleinen, ausserordentlich pigmentreichen Elementen bestehende Zellgruppe. Form und Pigmentgehalt dieser Gebilde erwecken den Eindruck, dass es sich um abnorme, vielleicht pathologische Zustände der betreffenden Zellregion handelt, und speziell die Zahl und abnorme Kleinheit der letzterwähnten Zellgruppe lässt es nicht unwahrscheinlich erscheinen, dass sie entweder durch rasch aufeinander folgende oder aber — möglicherweise — vielleicht durch pluri-polare Teilungen der benachbarten, gleichfalls stärker als normal pigmentierten Zellen hervorgegangen ist.

Die bisher besprochenen Zellarten entstammten den dorsalen und seitlichen Hautregionen, welche normalerweise durchwegs, wenn auch in verschiedenem Grade, Pigmentkörnchen enthalten. Frei von den letzteren sind dagegen, wenigstens bei gebleichten Larven und in gewissen Entwicklungsperioden, die ventral gelegenen Hautbezirke. Entsprechend ihrem Pigmentmangel erweisen sich denn auch die Zellen der ventralen Bauchwand reich an färbbaren Granulis, wenn auch weniger reich als jene vor und um die Nasenöffnung gelegenen Zellen, welche überhaupt von keiner anderen Zellart in dieser Hinsicht erreicht, geschweige denn übertroffen werden. Das eigenartige Bild der Fig. 39 erhält man von der ventralen Bauchhaut sehr junger, aus dem Uterus herausgeschnittener Larven, welche hier noch einen Rest des ursprünglichen Dottermateriales erkennen lassen. An dieser Hautstelle vermag man die sonst überall deutlichen Zellgrenzen nicht aufzufinden; dass ein Syncytium hier vorliegt, folgt natürlich hieraus nicht, die Erscheinung erklärt sich wohl daraus, dass die Zellen ungemein dicht aneinander liegen, und besonders in ihren Randteilen durch den eigenartigen Bau ihres Plasmas eigenartige, für eine Untersuchung im lebenden Zustande wenig günstige Lichtbrechungsverhältnisse darbieten. Dass das Plasma dieser Zellen von dem der übrigen verschieden sein dürfte, erhellt schon aus ihrem reichen Gehalt an Dotterplättchen

(D), die sich dem Neutralrot gegenüber vollkommen passiv verhalten und, verschieden gross, überall im Präparate nachgewiesen werden können. Sind nun auch die Zellgrenzen selbst nicht wahrzunehmen, so vermag man dennoch die Grösse der Zellen annähernd aus der Gruppierung der zahlreich vorhandenen Neutralrot-Granula zu ermitteln und zu sagen, dass sie eine zwar sehr variable, im Allgemeinen aber eine bedeutende ist, und im Mittel die an anderen Hautbezirken konstatierbare weit übertrifft. Die Granula selbst lassen, wie aus der Figur ersichtlich, die von Dotterkörnchen durchsetzte Randschichte¹⁾ des Zellleibs, sowie die centrale, den Kern bergende Zone frei. Mitten unter die Granula selbst sind jedoch auch Dotterplättchen eingesprengt.

Auch die Zellen der Haut an der ventralen Fläche des Kopfes sind frei von Pigmentkörnchen. Allein ihr Gehalt an färbbaren Granulis ist kein so bedeutender wie der der soeben besprochenen Zellart. Ist die Färbung der Larve mit dem Neutralrot nur eine geringgradige, so können sie sogar frei von gefärbten Granulis befunden werden. Das Präparat, das der Fig. 37 zu Grunde lag, stammte von einer so schwach gefärbten Larve; es ist (von oben nach unten) die Übergangszone der seitlichen in die ventrale Kopfhaut dargestellt. Während die weiter dorsalwärts gelegenen Zellen gefärbte Granula enthalten, und zwar um so mehr, je weiter nach oben zu sie liegen, enthalten die ventralen Zellen keine. Wenn sich auch durch die Versetzung dieser Larven in eine stärkere Farblösung oder durch ihr längeres Verweilen in einer schwächeren Lösung eine Aufnahme des Farbstoffes von Seiten der ventralen Zellen, und dem entsprechend eine intensivere Färbung der weiter dorsal-

1) In der Mitte des rechten Randes der Figur ist gerade diese Randschichte an einer Zelle im Gesichtsfelde gelegen, sodass nur die hier befindlichen Dotterelemente, aber keine gefärbten Granula (bei dieser Einstellung des Tubus) sichtbar waren.

wärts gelegenen, hätte erzielen lassen, so weist doch dieses verschiedene Verhalten darauf hin, dass auch hier dem Unterschiede in topographischer Beziehung ein Unterschied im chemischen Baue der Zellen entspricht, den man, ihrem histologischen Charakter nach, kaum in diesem Grade hätte vermuten können. Besässen die ventralen Zellen die gleiche histologisch-chemische Zusammensetzung wie die dorsalwärts gelegenen, oder, genauer ausgedrückt, hätten die Granula, die sie ja zweifellos besitzen, eine gleich grosse Affinität zu dem Farbstoffe, so hätten sie auch hier sich tingieren müssen, da ihnen das Neutralrot jedenfalls in gleich ausgiebiger Menge zur Verfügung stand. Das Letztere beweist, wenn das überhaupt noch bezweifelt werden könnte, schon der Umstand, dass die Granula in den Schaltzellen, welch letztere auch dieser Region nicht fehlen¹⁾, bei dieser Larve intensiv gefärbt waren und daher diese Zellart deutlich hervortreten liessen.

Ehe ich zur Besprechung des Verhaltens der in der Tiefe gelegenen Epithelzellen der Haut übergehe, soll vorerst noch die Reaktion der Zellen des Epithels der Hornhaut erwähnt werden. Wie die Fig. 38 zeigt, enthalten die oberflächlich gelegenen Zellen desselben eine grössere Menge von Granulis, welche jedoch stets den Randteil der Zellen frei lassen. Bei Einstellung auf die tiefere Lage zeigt sich dagegen (Fig. 41) ein den Kern umgebender Kreis von Granulis.

Die Untersuchung der Cornea, sowohl der gefärbten, wie auch der normalen (ungefärbten) Larven von Salam. mac. ergibt übrigens noch einen ganz eigenartigen Befund. Sowohl in der tiefen, wie in der oberflächlichen Zelllage lassen sich

¹⁾ Auf der der Zeichnung zu Grunde liegenden Stelle, befand sich zufällig keine dieser Zellen und so konnte sie auch nicht dargestellt werden; dagegen fanden sie sich in der Nachbarschaft zahlreich vor (vgl. Fig. 17, Taf. XXXVIII, wo diese Zellen an der gleichen Region mit Methylenblau gefärbt sind).

teils in, teils auch zwischen den Zellen zahlreiche Ringe von verschiedener Grösse nachweisen (vgl. Figg. 38 und 41 S Tr). Ihre Zahl und Anordnung ist eine sehr variable; Form und Lage sprechen dafür, dass sie Flüssigkeitstropfen darstellen, welche in und zwischen den Zellen gelagert sind, und welche wahrscheinlich von den letzteren selbst, bei ihren Stoffwechselvorgängen, produziert wurden (Sekretröpfchen). Da sie sich Farbstoffen gegenüber durchwegs ablehnend verhalten, so stellen sie wahrscheinlich Tropfen dar, welche nicht einfach aus einer wässrigen, sondern aus einer mehr öligen Flüssigkeit bestehen. Ranvier hat in den Hornhautzellen der Säugetiere Vakuolen beschrieben, von welchen Renaut nachwies, dass sie sich mit Osmium schwarz färben. Diese letztere Reaktion fehlt jedoch den hier beschriebenen Gebilden und sie können daher, schon aus diesem Grunde, den ersteren nicht an die Seite gesetzt werden.

Nach dieser Abschweifung wollen wir wieder zum Hautepithel zurückkehren und das Verhalten seiner tieferen, die Leydigschen Zellen bergenden Schichte schildern. Bei Larven, welche nach vollzogener Färbung monatelang in reinem Wasser gehalten wurden, verschwindet der Farbstoff allmählich aus den Leydigschen Zellen, verbleibt aber um so zäher in den übrigen. Bei schwächerer Vergrößerung bieten dann solche Hautstellen das Bild der Fig. 44: Während die Leydigschen Zellen vollkommen farblos sind, enthalten die zwischen ihnen gelegenen Epithelzellen (ZZ), sowie diejenigen der Hautsinnesorgane, zahlreiche, intensiv gefärbte Granula. — Unmittelbar nach Versetzung der Larven in die Farblösung sind jedoch auch die Mucingranula der Leydigschen Zellen gefärbt und sie sowie ihre Nachbarn bieten dann, bei stärkerer Vergrößerung, das Bild der Fig. 45 dar. Die Mucingranula treten allerdings nicht immer und nicht an allen Leydigschen Zellen gleichzeitig und gleich deutlich hervor; oft handelt es sich einfach nur um eine diffuse Durchtränkung des Zelleibes dieser Zellart mit dem Farbstoffe,

ohne dass besondere Elemente in ihm nachzuweisen wären. Auch ungefärbte Leydig'sche Zellen lassen übrigens nicht immer die Mucingranula deutlich erkennen und es entsprechen diese Unterschiede offenbar verschiedenen funktionellen Zuständen. —

Überblicken wir die über die Wirkung des Neutralrot bisher geschilderten Thatsachen, so lehren dieselben, dass — soweit es wenigstens die oberflächliche Epithellage der Hautdecke betrifft — die Zellen einer und derselben Epithelschichte an verschiedenen Regionen des Körpers eine verschiedene, an den gleichen aber stets auch die gleiche Reaktion dem Farbstoffe gegenüber aufweisen. Dagegen weisen zwei Zellarten, gleichgiltig wo sie am Körper gelegen sind, immer den gleichen Charakter auf: Die Flimmer-, sowie die Schaltzellen erscheinen überall in der für sie typischen Granulierungsform. Mit allen bisher erwähnten und noch zu erwähnenden Farbstoffen lassen sich eben, und das ist das prinzipiell Wichtige, in bestimmten Zellformen auch bestimmte Granulierungen nachweisen.

Das Neutralrot, dessen Affinität zu lebendem Gewebe eine ganz ausserordentliche ist, färbt nun nicht allein die Zellen des Hautepithels, es macht z. B. auch in den roten Blutkörperchen, in Endothel- und Knorpelzellen ähnliche Granula sichtbar, wie sie beim Bismarckbraun beschrieben wurden, und färbt fast alle anderen Gewebszellen in charakteristischer Weise, und zwar bei der Larve von *Salam. mac.* in ganz analoger Art, wie dies, von einigen wenigstens, bei der von *Siredon pisciformis* im Folgenden geschildert werden soll.

Was vorerst das Hautepithel dieser Larvenart betrifft, so nehmen auch seine Zellen das Neutralrot begierig an. Die Fig. 47 auf Taf. XLII zeigt eine damit gefärbte Hautstelle bei schwacher Vergrösserung; in fast allen Zellen sind lebhaft gefärbte Granula von beträchtlicherer Grösse als in denen der Salamanderlarve zu erblicken; ausser ihnen enthalten die Zellen

zahlreiche, hellglänzende Dotterplättchen, welche den Farbstoff nicht angenommen haben. Hin und wieder (im unteren Teile der Figur) findet sich eine Zelle, welche sich durch ihre besondere Grösse, ihre lebhafter gefärbten und auch etwas grösseren Granula, sowie durch ihren Reichtum an Dotterplättchen von den übrigen unterscheidet. Fast ganz oder gänzlich frei von mit Neutralrot sich färbenden Granulis erweisen sich einzelne, dicht mit schwarzen Pigmentkörnchen erfüllte Zellen; auch hier zeigt sich eben der erwähnte Parallelismus zwischen dem Reichtum einer Zelle an Pigmentkörnchen und ihrer Armut an durch ihre Färbbarkeit ausgezeichneten Granulis. Auch diese Zellart enthält jedoch, und zwar namentlich an ihrer Peripherie zahlreiche Dotterplättchen (in der Figur sind zwei dieser Zellen dargestellt) und besitzt einen besonders reichen Besatz von Flimmerhaaren, die in den untersuchten Stadien zahlreichen Zellen zukommen¹⁾. Endlich sind hie und da (Mitte und oberer Rand der Figur) Zellen eingestreut, welche — bei gleicher Einstellung des Tubus — keinerlei Granula zeigen und, bis auf eine geringe Pigmentkörnchenschichte in ihrem Randteile, völlig farblos erscheinen. Welches das Schicksal dieser verschiedenen Zellarten ist und ob insbesondere, was nicht unmöglich wäre, die beiden letzterwähnten nicht Übergangsformen zu den mit Neutralrot färbbaren darstellen, konnte ich leider nicht feststellen, da mir die hierzu nötige Aufzucht der Larven nicht gelang.

Untersuchen wir eine Partie dieser Hautstelle bei starker Vergrösserung (Fig. 51), so zeigt es sich, dass die in ihrer Grösse jetzt deutlich zu Tage tretenden Granula die Randteile der Zellen frei lassen, und dass zahlreiche Dotterplättchen zwischen sie eingelagert sind. Von dem lebhaften Rot der Granula heben sich die unter dem Epithel gelegenen schwarzen und gelben Pigmentzellen (P) sehr schön ab. Die gezeichnete Stelle enthält

¹⁾ Diese Flimmerzellen weisen einen relativ und absolut weit beträchtlicheren Gehalt an färbbaren Granulis auf als bei den Larven von *Salam. mac.*

ferner in ihrer Mitte eine der erwähnten, durch ihre Grösse und durch die intensivere Färbung ihrer Granula besonders ausgezeichneten Zellen. Wie an den dotterreichen Zellen der ventralen Bauchwand von *Salam. mac.*, so lassen sich auch hier — wahrscheinlich aus der gleichen Ursache — keinerlei Zellgrenzen (im Flächenbilde) nachweisen.

Die Reaktion der Zellen an den verschiedenen Hautstellen des Körpers ist auch bei der *Siredon*larve nicht überall die gleiche; doch waren, da die untersuchten Exemplare noch sehr jung und ihr Hautepithel daher noch wenig differenziert war, diese Unterschiede nicht so bedeutend wie an den älteren *Salamander*larven. Auch hier liess sich jedoch feststellen, dass die Granulierung der Zellen eine andere ist, wenn man die Kiemen-, oder die Kopfhaut, oder eine Stelle am Schwanze untersucht. Dieser Unterschied tritt namentlich dann deutlich hervor, wenn man das soeben beschriebene Bild der Granulierung einer Stelle des Rumpfeithels mit dem der Hornhautepithelzellen vergleicht. Die letzteren stellen grosse polygonale Elemente (Fig. 50) dar; sie enthalten ausserordentlich feine Granula, die aber nur im Randteile der Zellen, oft namentlich in den Ecken der Polygone angehäuft, liegen. (Zellgrenzen lassen sich in diesem Stadium nicht wahrnehmen.) — Die pigmentarmen Zellen des Mundbodens und der Bauchwand zeigen mehr und grössere Granula als die übrigen. —

Ein ausserordentlich zierliches Bild ergibt die vitale Färbung mit Neutralrot am Schwanze, wenn man — die übrigens nicht besonders reich mit färbbaren Granulis versehenen Epithelzellen nicht berücksichtigend — auf das unter ihnen liegende Gewebe einstellt (Fig. 49). Hier fällt zunächst das reiche Netz der durch den Farbstoff in keiner Weise beeinflussten subepithelialen schwarzen und gelben Pigmentzellen (P und g P) ins Auge; während die Fortsätze je der gleichartigen dieser beiden Zellformen dicht aneinander liegen und wahrscheinlich

auch miteinander verschmelzen können, sind die Ausläufer der einen Zellart von denen der anderen stets scharf getrennt und gehen nicht ineinander über¹⁾; es handelt sich eben, wie früher betont wurde, um zwei voneinander durch ihre morphologischen, physiologischen und chemischen Eigenschaften völlig verschiedene Zellarten. — In dem Maschenwerk dieser Fortsätze liegen, ein drittes Netz bildend, zahlreiche embryonale Bindegewebszellen (B), und in jeder von ihnen haben sich bestimmte Elemente mit dem Farbstoff intensiv gefärbt. Hierzu kommen noch am Schwanzsaume (S) farbige braunrote Schollen, die übrigens auch an ungefärbten Larven vorhanden sind. — Das nähere morphologische Verhalten der in den embryonalen Bindegewebszellen sich färbenden Granula lässt sich zeichnerisch schwer wiedergeben. Bei stärkerer Vergrößerung sind drei dieser Zellen in der Fig. 52 wiedergegeben. Es fällt hier auf, dass die Granula nicht, wie sonst, eine kontinuierliche Masse bilden, sondern in Gruppen, und zwar sowohl im Centrum wie an der Peripherie der Zellen, liegen. Die Zeichnung kann natürlich nur das Bild wiedergeben, das sich bei Einstellung auf eine bestimmte Ebene des Präparates darbietet, sie kann nicht alle Fortsätze dieser Zellen wiedergeben und muss die gezeichneten ausserdem noch alle als in einer und derselben Ebene verlaufend darstellen. In Wirklichkeit aber breiten sich die Fortsätze nach allen drei Dimensionen des Raumes aus und die nähere Untersuchung ergibt, dass die mit Neutralrot (oder Bismarckbraun u. s. w.) sich färbenden Granulagruppen stets an der Abgangsstelle eines dieser Fortsätze vom Zellkörper gelegen sind, niemals aber im Centrum der Zellen oder in einem der Fortsätze selbst. Wenn somit eine in der

1) Setzt man die Larven in eine Alizarinlösung, so erhalten sie eine braunrote Gesamtfarbe, zeigen Farbstoffkrümel in den Gefässen u. a. m.; wiederholt aber findet man hierbei eine maximale Ausbreitung der epithelialen und der in der Cutis gelegenen Pigmentzellen: Allein auch dann lässt sich kein Übergang der Fortsätze der beiden Zellarten (der Cutis) ineinander nachweisen.

Zeichnung wiedergegebene Granulagruppe im Centrum der Zelle zu liegen scheint, so ist in Wirklichkeit das Verhalten das, dass hier an einer entsprechenden Stelle der Peripherie ein Fortsatz abgeht, der aus der Tafelebene heraustritt, dessen Abgangsstelle also in der Zeichnung nur scheinbar im Centrum der Zelle gelegen ist. — Ausser diesen Granulagruppen finden sich übrigens in diesen Zellen manchmal grössere farbige Klumpen.

Dass sich in den quergestreiften Muskelfasern mit Bismarckbraun und Methylenblau Granula nachweisen lassen, wurde bereits erwähnt. Mit Neutralrot liefern sie das Bild der Fig. 54. Die Granula liegen teils zwischen, teils in den Muskelfasern selbst, oft ganz regelmässig übereinander geordnet; in denen von Salam. mac. liegen zumeist auch noch mit Neutralrot stark gefärbte Gebilde von der Form kurzer schmaler Stäbchen. — Das Bild dieser Färbung erinnert oftmals sehr an die (amitotischen) Kernteilungsfiguren, welche Godlewski¹⁾ vor kurzem an quergestreiften Muskelfasern beschrieben hat (Fig. 11 dieses Autors); mit Rücksicht auf den Umstand, dass sich die übrigen Kerne der vitalen Färbung gegenüber stets ablehnend verhalten, wäre es von Interesse, festzustellen, ob eine vitale Färbung der durch Amitose entstandenen Kerne möglich ist. Im Übrigen handelt es sich bei dieser Färbung zum Teile auch um die schon von Koelliker beschriebenen interstitiellen Körnchen²⁾ der Muskelfasern. Ob freilich die mit verschiedenen Farbstoffen darstellbaren Granula in den Muskelzellen ein und dieselben Elemente sind, oder aber, ob die verschiedenen Farbstoffe auch verschiedene Arten von Granulis zur Ansicht bringen, dessen bin ich mir nicht sicher; die mit Bismarckbraun erzielten Bilder differieren etwas

1) Vgl. auch die jüngsten Angaben über dieses Thema bei Solger, Anat. Anz. Bd. 18, H. 4/5: Zur Kenntnis und Beurteilung der Kernreihen im Myocard.

2) Arnstein hält diese interstitiellen Körnchen für Fettpartikelchen, was nach ihrem ganzen Verhalten unwahrscheinlich ist (vgl. die Versuche Galeottis).

von den mit Methylenblau erhaltenen, und diese letzteren wiederum unterscheiden sich in einigen Punkten¹⁾ von denen mit Neutralrot.

Wie mit Bismarckbraun so lassen sich auch mit dem Neutralrot jene in den Kiemen enthaltenen amorphen Massen färben; die Fig. 55 stammt von einem Kiemenblättchen der Siredonlarve und man sieht hier durch das Epithel, dessen Zellgrenzen markiert wurden, einige von diesen mit Neutralrot stark tingierten Gebilden, die hier durch Zahl, Grösse und Form ausserordentlich variieren.

In den Zellen des Hautepithels der Larven von *Rana temporaria*, zu welchen wir jetzt übergehen wollen, liessen sich, wie erwähnt wurde, mit dem Methylenblau nur die Pigmentkörnchen, aber keine Granula, mit dem Bismarckbraun einige, aber bisweilen nicht alle Granula färben. Mit dem Neutralrot dagegen kann man, wie die Fig. 48 zeigt, in dieser Zellart eine grosse Anzahl von färbbaren Granulis darstellen. Zwei Arten derselben sind zu unterscheiden: grössere Elemente, die den Farbstoff mit verschiedener Intensität angenommen haben und die sich nur im peripherischen Anteil des Zelleibs vorfinden, und ferner ausserordentlich viel kleinere Granula, welche sich überall im Zellkörper nachweisen lassen. Beide Arten finden sich sowohl in den pigmentarmen wie in den — im Gegensatz zur Salamanderlarve — durch ihren besonders reichen Gehalt an Pigmentkörnchen ausgezeichneten (vgl. die Figur) Flimmerzellen. Namentlich in der ersteren Zellart sind aber ausser diesen Elementen auch noch zahlreiche, aber ungefärbte Dotterplättchen vorhanden. —

¹⁾ Arnold bildet mit Methylenblau behandelte Muskelfasern ab; diese unterscheidet sich wesentlich von dem hier reproduzierten Neutralrotbilde. — aber es sind auch die Objekte, von denen Arnolds und mein Präparat stammen, verschieden, sowie auch die Methode der Färbung.

Am Schlusse der Besprechungen der Wirkungen des Neutralrot möchte ich noch auf eine auffällige Analogie einer Farbenreaktion hinweisen. Die Schaltzellen zeichnen sich, wie erwähnt, durch die besondere Art und Form ihrer Granulierung aus. Sie finden sich nur bei den Larven von Salam. mac., in der Haut des erwachsenen Tieres fehlen sie. Untersucht man nun die Kloakenschleimhaut eines erwachsenen mit Neutralrot gefärbten Salamanders¹⁾, so bemerkt man (Fig. 53) in dem geschichteten Epithel derselben Zellen (R Z), die ganz auffällig den Schaltzellen gleichen: Während ihre Nachbarn nur einen centralen, den Kern umgebenden Körnchenring besitzen, zeichnen sie selbst sich, abgesehen von ihrer besonderen Form, durch den Reichtum an weit grösseren, regelmässig gestalteten und gruppierten Körnchen aus. Nun hat schon vor längerer Zeit (1865) Rudneff in der Froschhaut kolbenförmige Zellen beschrieben, die den hier dargestellten sehr ähneln. Es ist nicht unmöglich, dass die Schaltzellen der Salamanderlarven, die in der Fig. 53 gezeichneten Zellen in der Kloakenschleimhaut sowie die Rudneffschen Zellen Gebilde darstellen, die einander entwicklungsgeschichtlich sehr nahe stehen. Der Farbenreaktion nach sind jedenfalls die beiden ersteren in ihrem chemischen Bau nahe verwandt. Morphologisch ähnliche Elemente sind übrigens, worauf ich hier nicht näher eingehen kann, in der Haut zahlreicher niederer Wirbeltiere vorhanden und es bleibt noch zu untersuchen, inwieweit sie einander chemisch gleichen.

Mit dem dem Neutralrot so nahe stehenden Neutralviolettl lassen sich, schon aus dem Grunde, weil es in grösserer Menge nicht so gut vertragen wird, keine so intensiven Färbungen

¹⁾ Auf dieses Objekt bin ich durch H. Prof. S. Mayer aufmerksam gemacht worden.

erzielen wie mit dem Neutralrot. Allem Anscheine nach sind aber die Zell-Elemente, die sich mit diesem Farbstoffe verbinden, dieselben wie diejenigen, die durch das Neutralrot gefärbt werden, denn sie stimmen in Grösse, Zahl und Anordnung mit den letzteren vollkommen überein. Der Farbenton der dargestellten Granula ist jedoch, wie aus der Fig. 56 (welche das Verhalten der Granula bei tiefer Einstellung auf das Haut-epithel zeigt) erhellt, ein mehr lichtgelber. Das charakteristische Verhalten der Leydig'schen und der Schaltzellen ist auch bei diesem Farbstoffe, wie bei den übrigen, nachzuweisen. — Durch eine Besonderheit aber zeichnet sich das Neutralviolett vor allen anderen Farbstoffen aus: Wiederholt kann man in pigmentfreien Hautstücken blau gefärbte, kreisförmige Stellen vorfinden (im unteren Teile der Figur sind zwei sichtbar), deren Lage, Form und Anordnung dafür spricht, dass sie Schaltzellen entsprechen, welche allerdings in einem besonderen, vielleicht infolge der Einwirkung des Farbstoffes abnormen Zustande sich befinden. Denn die sonst in dieser Zellart darstellbaren Granula sind an diesen Stellen nicht nachzuweisen.

Jedenfalls handelt es sich hier um eine ganz auffällige und ziemlich hochgradige Metachromasie des Farbstoffes. Diese lässt sich übrigens, manchmal wenigstens, auch an Zellen der oberflächlichen Lage des Epithels konstatieren. Einzelne derselben erscheinen nämlich in ihrer Gänze diffus schwach blau gefärbt, ohne irgend welche Granula aufzuweisen¹⁾. Diese Metachromasie der oberflächlichen Epithelzellen ist allerdings nicht an jeder Larve und nur an einzelnen, und zwar pigmentfreien Stellen nachweisbar. Nach den bisherigen Resultaten möchte ich vermuten, dass diese eigenartige Umfärbung Zellen betrifft,

¹⁾ Der Färbung nach stehen diese Fälle von Metachromasie denen an der Seite, welche jüngst von S. Mayer an den roten Blutkörperchen („Cyano-cyten“) von mit Neutralrot gefütterten erwachsenen Salamandern gefunden wurden. (Nach einem im Vereine „Lotos“ gehaltenen, noch nicht veröffentlichten Vortrage.)

welche sich im Stadium der Teilung befinden. Allerdings braucht, wenigstens an anderen Zellen, nicht jede Zellteilung mit dieser Metachromasie verknüpft zu sein: Die am rechten Rande der Figur gezeichnete Schaltzelle befand sich offenbar in Karyokinese, weist aber keine Metachromasie, wohl aber, entsprechend der mitotischen Phase, eine symmetrische Gruppierung der Granula in zwei Haufen auf.

Das Neutralviolett wird, wenn die gefärbten Tiere in reines Wasser versetzt werden, langsam abgegeben. Die Granula in den Zellen verschwinden dann, die Pigmentkörnchen erscheinen aber, wie schon früher, nicht so dunkel als normalerweise, sondern sie besitzen eine braun-rote Färbung, aus der die Gesamtfarbe der Tiere resultiert und die Wochen lange behalten wird. Die Granula selbst verschwinden am spätesten aus den zwischen den Leydigischen befindlichen Epithelzellen.

Entsprechend der intensiven Gesamtfärbung, welche man mit dem Nilblausulfat den Larven erteilen kann (Taf. XXXVIII, Fig. 9), ist auch die Tinktion der histologischen Elemente eine ausserordentlich starke. Die Fig. 65, welche einer mit Nilblausulfat behandelten Larve entstammt, stellt durchaus nicht den höchsten erzielbaren Grad der Färbung dar. Die Mucingranula der Leydigischen Zellen sind es ganz besonders, die sich mit dem Farbstoffe beladen haben. Sie zeigen sehr oft (vgl. die Figur) eine Metachromasie von der Art, dass sie neben der dunkelblauen Tingierung auch alle Farbentöne zwischen dieser und dem Violett, ja selbst bis zum Rot aufweisen. In den oberflächlich gelegenen Epithelzellen erscheinen zahlreiche hellblau gefärbte Granula; die Pigmentkörnchen derselben sind, ähnlich wie beim Methylenblau, in Grün umgefärbt, desgleichen die an der freien Seite der Zellen der Hautsinnesorgane befindlichen

Granula, während sich wiederholt an der basalen Seite dieser Zellen verschieden grosse, blaue Granula nachweisen lassen (Fig. 65). Die Schaltzellen (SZ) sind auch hier durch ihre mit einem besonderen Farbenton versehenen grösseren Granula charakterisiert. Was aber die Nilblausulfatwirkung besonders kennzeichnet, ist das Vorhandensein zahlreicher ausserordentlich feiner, oft in unregelmässigen Gruppen dicht neben und über einander liegender Krystallnadeln von violett-brauner Farbe. Sie liegen in den Zellen selbst, und zwar dicht unter ihrer freien, eventuell Pigmentkörnchen bergenden Oberfläche. Infolge dieser Lage im Zellkörper selbst überschreitet daher auch ihre Länge, die manchmal stellenweise etwas bedeutender ist als in der Fig. 65, niemals diejenige des betreffenden Zelldurchmessers, und sie reichen niemals über das Territorium einer Zelle hinaus. Wie beim Bismarckbraun, so enthalten auch beim Nilblausulfat die Schaltzellen ganz besonders viele und in unregelmässiger Weise zu einander gestellte Krystallnadeln, sodass sie gerade durch dieses Merkmal von den übrigen Epithelzellen sich gut abheben. Dagegen enthalten die Flimmerzellen, besonders diejenigen um die Nasenöffnung, entweder gar keine oder jedenfalls viel weniger Krystallnadeln als die nichtflimmernden pigmentierten Zellen.

Die neben der vorigen stehende Fig. 64 stellt (einen Teil) einer jener eigenartigen, als Klammatocyten bezeichneten Zellen des Bindegewebes dar. Alle Granula dieser Zellen sind durch das Nilblausulfat hellblau gefärbt und es sind auf diese Weise alle, auch isolierte, diesen merkwürdigen Zelltypen zugehörigen Teile in dem betreffenden Gewebe sehr leicht, jedenfalls viel leichter als in ungefärbtem Zustande der Larven, auffindbar. — Es lassen sich übrigens die Granula dieser Zellart auch mit den übrigen vitalen Farbstoffen tingieren und so besonders hervorheben. — Ebenso lässt sich in allen anderen Arten von Gewebszellen, bei welchen überhaupt Granula vital nachweisbar

sind, eine Färbung derselben mit dem Nilblausulfat und, wie gleich erwähnt sein mag, auch mit dem Nilblauchlorhydrat, erzielen.

Die mit Nilblausulfat behandelten Larven verlieren langsam, wie berichtet wurde, ihre dunkelblaue Farbe und werden zunächst, wenn sie einige Tage in ungefärbtem Wasser zugebracht haben, hellgrün. Untersucht man sie in diesem Stadium, so zeigt es sich, dass die blauen Granula aus den Epithelzellen verschwunden sind und dass auch die Mucingranula der Leydig'schen Zellen nicht mehr gefärbt sind. Dagegen sind die Pigmentkörnchen, sowie die Körnchen in den Zellen der Hautsinnesorgane immer noch grün gefärbt und es sind ferner die Krystallnadeln in den Zellen enthalten, und zwar, wie es scheint, in vollkommen unveränderter Zahl und Form. In den Leydig'schen Zellen, die früher nur wenige oder (zumeist) keine dieser Nadeln enthielten, finden sich jetzt tiefbraun bis schwarz gefärbte Krystalldrusen in ihrer centralen, den Kern umschliessenden Zone. — Nach 3—4 wöchentlichem Aufenthalte der Larven in reinem Wasser sind sie zumeist schon wieder normal gefärbt.

In vielen Punkten den soeben besprochenen ähnlich sind die Wirkungen, welche man mit dem Nilblauchlorhydrat erzielen kann. Zunächst lassen sich (Fig. 61, 62 u. 63) sowohl in den pigmentierten, wie in den pigmentfreien (oder -armen) Zellen dieselben blauen Granula wie mit dem Nilblausulfat nachweisen und die besondere Reaktion der Schaltzellen (Fig. 63 SZ) darstellen, ebenso sind die Pigmentkörnchen grün gefärbt. Ein besonderes Verhalten weisen aber die Leydig'schen Zellen auf (Fig. 61): Ähnlich wie beim Bismarckbraun erscheinen in ihnen nach der Nilblauchlorhydratfärbung zahlreiche, bei Einstellung auf eine und dieselbe Ebene in verschiedenster Richtung zu

einander orientierte Ringe, deren Farbe jedoch hier eine violette ist. Es scheint, dass der Farbstoff nur in den Randteil der Mucingranula, denen diese Ringe wohl entsprechen mögen, eindringen kann, wobei er eine Umfärbung in Violett erfährt. Zu einer späteren, völligen Durchfärbung der Granula, wie bei Bismarckbraun, scheint es meinen Erfahrungen nach hier überhaupt nicht zu kommen¹⁾.

Wie beim Nilblausulfat, so scheiden sich auch beim Nilblauchlorhydrat Krystallnadeln in den Zellen ab, namentlich in den pigmentkörnchenhaltigen (Fig. 62 u. 63); diese Nadeln sind jedoch viel kürzer und etwas breiter als die früheren und zu meist zu unregelmässigen, klumpigen Drusen vereinigt; ihre Farbe ist ferner eine hellviolette, stark zum Rot hinneigende; die pigmentarmen Flimmerzellen dagegen sind frei von ihnen (Fig. 62 FZ) und es gewährt infolge dieses Umstandes, besonders die Flimmerepithelzone um die Nasenöffnung bei entsprechend schwacher Vergrösserung, ein ausserordentlich zierliches Bild durch den Wechsel der mit violetten Nadeln reich durchsetzten, nicht flimmernden und der ihrer entbehrenden, bloss durch ihre (wenigen) grün gefärbten Pigmentkörnchen und die blauen Granula (welche beiden Elemente, allerdings im umgekehrten Verhältnisse der Menge, übrigens auch die andere Zellart besitzt) farbig erscheinenden Flimmerzellen.

Von der Natur dieser bei den beiden Nilblauverbindungen auftretenden Nadeln vermag ich nicht mehr auszusagen, wie von denen des Bismarckbraun²⁾: Sie stellen eine Verbindung

1) Es ist allerdings hier, wie beim Bismarckbraun, auch die Möglichkeit vorhanden, dass sich zwischen den Mucingranulis besondere ringförmige Gebilde finden, welche den Farbstoff annehmen. Auch Michaelis hat (mit Janusgrün) in Drüsenzellen, neben Fädchen und Stäbchen, kleine Ringe darstellen können, von welchen er angiebt, dass sie durch Einbiegung der Fädchen entstanden zu sein scheinen.

2) Michaelis erwähnt, dass sich — allerdings bei anderer Methode der vitalen Färbung als der hier angewandten — ein Leukokörper des Neu-

des Farbstoffes mit einem in den Zellen selbst normaler Weise enthaltenen (oder eventuell erst durch die Einwirkung dieser Stoffe auf die lebende Zelle entstandenen) Körper, vielleicht von Eiweissnatur dar, deren Konstitution noch zu ermitteln ist. — Dass sie bei den beiden zuletzt besprochenen Farbstoffen verschieden sind, beweist schon ihre verschiedene Form und Farbe. Dass ferner bei ihrer Entstehung nur besondere, nicht in allen Zellen enthaltenen Stoffe (Eiweisskörper?) mitwirken, beweist der Umstand, dass, im Gegensatze zum Nilblausulfat, bei Nilblauchlorhydrat sich in den Schaltzellen (zumeist wenigstens) keine Krystallnadeln vorfinden.

Im Gegensatze zum Nilblausulfat wird das Nilblauchlorhydrat ungemein lange vom Larvenkörper festgehalten und die Tiere behalten, ähnlich wie beim Neutralrot, auch in reinem Wasser, monatelang ihre grüne Färbung bei. Das histologische Bild ändert sich aber, schon nach wenigen Tagen des Aufenthaltes in ungefärbtem Wasser, in derselben Weise wie beim Nilblausulfat: Die blauen Granula verschwinden aus den Epithelzellen, wie auch die violetten Ringe aus den Leydigischen Zellen, in deren Centrum wiederum Drusen kleiner, hier aber tiefblau gefärbter Nadeln erscheinen. Die Krystallnadeln in den übrigen Zellen bleiben aber noch lange erhalten; die grüne Färbung der Larven wird lediglich durch die entsprechende, hier ganz besonders dauerhafte Umwandlung der normalen Tinktion der Pigmentkörnchen selbst verursacht.

Mit allen Vertretern der zuletzt besprochenen Farbstoff-Gruppe war es uns möglich gewesen, entweder nur in be-

tralrot in büschelförmig angeordneten Krystallnadeln häufig in den Geweben abscheidet. Ich habe das beim Neutralrot bei meinen Versuchen nie wahrgenommen. In welcher Beziehung die bei den anderen Farbstoffen beobachteten krystallinischen Abscheidungen zu Leukokörpern stehen, vermag ich nicht anzugeben.

stimmten oder in allen Zellen der verschiedenen untersuchten Gewebsarten Granula nachzuweisen. Für einige Farbstoffe war die Identität dieser Granula eine ganz unzweideutige: Die Neutralrot-, Neutralviolett-, Bismarckbraun- und die Nilblaugranula sind allem Anscheine nach die gleichen Elemente. Zweifelhaft aber blieb es, ob die mit Methylenblau einerseits, dem Neutralrot, Neutralviolett oder Bismarckbraun und Nilblau andererseits darstellbaren Granula Gebilde einer und derselben Art sind. Eine Entscheidung dieser Frage liess sich dadurch erhoffen, dass man den Larven, durch Versetzen in entsprechende Lösungen, diese beiden Arten von Farbstoffen (in je einem Vertreter) zur Annahme darbot und nun den Erfolg dieser Doppelfärbung untersuchte.

Setzt man eine mit Neutralrot intensiv gefärbte Larve in eine ziemlich starke Methylenblaulösung, so erhält man Resultate, welche in den Fig. 57, 58 und 60 veranschaulicht sind. Die erstere, die schon erwähnt wurde, stellt eine vor und unter dem Auge gelegene Hautstelle des Kopfes bei schwacher Vergrösserung dar; die Neutralrot-Reaktion tritt sehr schön zu Tage (vgl. Seite 40). Dass die Larve auch mit Methylenblau gefärbt war, lässt sich aber, auch bei dieser schwachen Vergrösserung, sehr deutlich an einem Umstande erkennen: Von Stelle zu Stelle treten einzelne Zellen durch die lebhaft blaue Färbung ihrer Granula hervor — es sind, wie schon hier erkennbar und mit stärkerer Vergrösserung sicher konstatierbar ist — die auch mit einfacher Methylenblaufärbung so gut darstellbaren (vgl. Fig. 17) Schaltzellen. Diese Zellart besitzt Granula, die, wie erwähnt, auch durch Neutralrot gut gefärbt werden, und das waren sie auch bei unserer Larve, bevor sie in die Methylenblaulösung versetzt wurde. Wie aber schon bei blosser Methylenblaufärbung die besondere Affinität der Granula zu diesem Farbstoffe lebhaft zu Tage trat, so manifestiert sie sich auch bei diesem Versuche in ganz auffälliger Weise, indem hier das Neutralrot an das

Wasser der Methylenblaulösung abgegeben und an seiner Stelle das Methylenblau aufgenommen wird. Nun könnte allerdings eingewendet werden, dass das Neutralrot sehr leicht in Lösung geht¹⁾; versetzt man die mit ihm gefärbte Larve in die Methylenblaulösung, so verhält sich diese dem Neutralrot gegenüber als Lösungsmittel und es wird daher abgegeben. Dem widerspricht aber der Umstand, dass, wie aus der Figur ersichtlich, alle anderen Zellen das Neutralrot behalten. Und noch mehr: Man kann die auf diese Weise doppelt gefärbte Larve neuerlich in Neutralrot versetzen, die ihm zukommende Rotfärbung der übrigen Zellen noch erhöhen, und trotzdem wird, vorausgesetzt, dass die Lösung nicht allzu stark ist, oder die Tiere nicht zu lange in ihr gehalten werden, das Methylenblau von diesen Granulis nicht abgegeben. Nur ganz langsam, oft erst nach Tagen, tritt an seine Stelle das Neutralrot, während es früher sofort abgegeben wurde, um dem Methylenblau Platz zu machen. Diese Thatsachen beweisen einerseits die besondere Affinität dieser Granulaart zum Methylenblau und anderseits eine sogenannte Amphophilie der Granula überhaupt, d. h. die Fähigkeit derselben, zweierlei verschiedene Farbstoffe an sich zu ziehen²⁾. Die erstere Thatsache bildet einen besonders schönen Beweis dafür, wie elektiv die vitale Färbung vor sich geht.

Untersucht man nun eine Stelle der Fig. 57 mit stärkerer Vergrößerung, so zeigt es sich (Fig. 58), dass auch die oberflächlich gelegenen Epithelzellen der blauen Granula nicht entbehren³⁾. Ihre Zahl ist aber eine äusserst geringe und ent-

1) Versuche bewiesen, dass das Methylenblau noch leichter in Lösung geht. Es muss daher auch in stärkerer Lösung zur Färbung verwendet werden als das Neutralrot.

2) Allerdings zu verschiedenen Zeiten; in diesem Sinne ist die Amphophilie auch durch die übrigen Versuche erwiesen. Eine gleichzeitige Aufnahme zweier verschiedener Farbstoffe ist aber, wie später besprochen werden wird, gleichfalls möglich.

3) Bei entsprechend starker Methylenblaufärbung tritt auch die für diesen Farbstoff charakteristische Umfärbung der Pigmentkörnchen ein. Die auf diese Weise erzielten Bilder enthalten also noch einen grünen Farbenton beigemischt.

spricht ungefähr derjenigen, wie man sie nach reiner (starker) Methylenblaufärbung in ihnen nachweisen kann, ebenso wie die Zahl der roten Granula der bei reiner Neutralrotfärbung erhaltenen entspricht. Dieses Verhältnis ändert sich durch Verstärkung der einen oder der anderen Lösung nicht. Es ist daher wahrscheinlich, dass sich in diesen Zellen immer nur gewisse Granula mit dem einen oder anderen Farbstoffe darstellen lassen. Die hier mit Methylenblau gefärbten Granula würden also bei reiner Neutralrotfärbung nicht zu Tage treten und umgekehrt. Die Granula der Schaltzellen dagegen lassen sich durch jeden dieser Farbstoffe darstellen, wenn sie auch zum Methylenblau die grösste Affinität besitzen. So hat es daher auch nichts Überraschendes an sich, wenn man an solchen, stark mit Neutralrot gefärbten Larven in den Schaltzellen (in der Figur sind vier sichtbar) neben den blauen, auch einzelne rote Granula nachweisen kann.

Sehr schön und ganz konstant bei entsprechend starker Tinktion ist die Doppelfärbung in den Zellen der Cornea (Fig. 60). Dass hier, im Gegensatze zu den Epithelzellen der Haut, mit dem Methylenblau zahlreiche Granula darstellbar sind, wurde schon erwähnt; ebenso lassen sich solche mit Neutralrot darstellen. An den doppelt gefärbten Larven sind denn auch rote und blaue Granula in diesen Zellen vorhanden. Ihre Gesamtzahl ist allem Anscheine nach grösser als nach reiner Neutralrot- (vgl. Fig. 38) oder Methylenblaufärbung. Und so ist es auch wahrscheinlich, dass hier zwei verschiedene Granulaarten vorliegen, von denen die eine nur durch den ersten, die andere nur durch den zweiten Farbstoff tingiert wird. Die mit Methylenblau sich färbenden Granula geben übrigens den Farbstoff leicht ab; versetzt man eine doppelt gefärbte Larve in Wasser oder Neutralrotlösung, so verschwinden die blauen Granula aus den Hornhautzellen und nur die roten bleiben zurück. Entsprechend der obigen Annahme aber enthalten diese Zellen dann ersichtlich viel weniger Granula als bei der Doppelfärbung.

Lässt sich auf diese Weise ein gewisser Gegensatz in der Wirkung des Methylenblaus einerseits und des Neutralrots, als Vertreters der anderen Gruppe von Farbstoffen¹⁾ anderseits darthun und damit auch ein neuer Beweis für die Elektivität der vitalen Färbung gewinnen, so lehren Versuche dieser Art auch, dass die mit dieser zweiten Gruppe von Farbstoffen darstellbaren Granula Gebilde gleichen Wesens sind. Ob zwar unter ihnen dem Neutralrot die grösste Affinität dem lebenden Gewebe gegenüber zukommt, so kann man dennoch das eine Färbungsbild durch das andere ersetzen, wenn man die Larven nach einander aus der einen (z. B. Neutralrot-) Lösung in die andere (z. B. Bismarckbraun) bringt. Nur der Farbenton, nicht die Zahl und Art der sichtbar werdenden Granula ändern sich dabei. Noch durch einen anderen Versuch aber kann man diese Identität der Granula erweisen: Wären z. B. die mit Neutralrot sich färbenden Granula von anderer Art als die mit Bismarckbraun zu Tage tretenden, so könnte man mit Recht vermuten, dass, wenn man die Larven in ein Gemisch²⁾ zweier entsprechend starker Lösungen dieser beiden Stoffe bringt, diese als verschieden angenommenen Granula eine Auswahl zwischen den beiden, ihnen in genügender Menge zur Verfügung stehenden Farbstoffen treffen: Die einen müssten also das Neutralrot, die anderen das Bismarckbraun an sich ziehen. Das ist aber nicht der Fall, sondern alle Granula färben sich mit einem der Mischung beider Farbstoffe entsprechenden gelb-rötlichen Tone, wie dies in Fig. 59 dargestellt ist. Sowohl in den pigmentierten,

1) Identisch in ihrer Wirkung auf die Granula sind mit dem Neutralrot das Neutralviolett, das Bismarckbraun und wahrscheinlich die beiden Nilblauverbindungen; allerdings scheint es, als ob die mit den beiden letzteren dargestellten Granula an Zahl den mit den beiden erstgenannten Farbstoffen sichtbar werdenden nachstehen.

2) Versuche mit Doppel- und Mischfärbungen hat auch Loisel an Spongien angestellt, und zwar mit im Prinzip ganz ähnlichen Resultaten.

granuläreren, wie auch in den pigmentarmen, granularen (Flimmer-) Zellen haben alle Granula vollkommen den gleichen Farbenton. — Dieser Versuch lehrt ferner, dass die Zellen auch die Mischung zweier verschiedener Farben annehmen können. Ihre Granula sind also amphophil, auch in dem Sinne, dass sie sich, nicht bloss nacheinander (und abwechselnd), sondern eventuell auch gleichzeitig mit zwei Farbstoffen beladen können, zu welchen sie die gleiche Affinität besitzen.

Chemisches über die vitale Färbung.

Unter den in den vorangegangenen Abschnitten erzielten Resultaten tritt ganz besonders deutlich die ausgesprochene Elektivität des lebenden Gewebes hervor: Von den vielen untersuchten Farbstoffen erwies sich nur eine ganz geringe Anzahl als fähig, vital zu färben, d. h. von bestimmten Elementen der Zellen, ohne ersichtliche wesentliche Schädigung ihrer Funktionen, aufgenommen zu werden. Diese ausgesprochene Elektivität lässt den Gedanken sehr naheliegend erscheinen, dass zum Zustandekommen der vitalen Färbung vielleicht eine ganz bestimmte chemische Konstitution des färbenden Körpers notwendig ist. Welche Verhältnisse hier eine Rolle spielen, ist meines Wissens bisher nicht des Näheren erörtert worden. Michaelis hat vor Kurzem einiges Allgemeine über die vitale Färbung besprochen, und im Besonderen jene Momente erörtert, welche für die Injektion und die postmortale Färbung in Betracht kommen. Es kommt hierbei wesentlich in Frage, ob der verwendete Farbstoff ein küpenbildender oder aber ein nicht verküpernder ist, d. h. ob seine Leukokörper durch die Berührung mit der Luft wieder in den ursprünglichen Farbstoff zurückverwandelt, oder aber bei dieser Oxydation keinen, beziehungsweise einen anderen als den ursprünglichen Farbstoff liefern. Zu der ersteren Klasse gehören die Thiazine (z. B.

Methylenblau), zu der letzteren die Azofarben (z. B. Bismarckbraun). — Die Ausführungen von Michaelis gelten jedoch für eine andere als die hier angewandte Färbungsmethode und beziehen sich auch auf keine so grosse Farbenreihe.

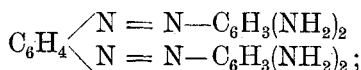
Die Ermittlung der (eventuellen) Beziehungen der oben erwähnten Art lässt sich aber nur aus der Berücksichtigung einer möglichst grossen Zahl von Farbstoffen erwarten.

Wenn im Nachstehenden einige dieser Beziehungen angegeben werden, so muss gleich bemerkt werden, dass gewiss nicht allen von ihnen — im Näheren muss dies erst durch weitere vergleichende Untersuchungen festgestellt werden — eine allgemeine Geltung zukommt, sondern nur eine spezielle, dem verwendeten Untersuchungsmaterial und der angewandten Färbemethode entsprechende. Mir selbst wäre übrigens die Sichtung dieser Verhältnisse, ihrer rein chemischen Seite nach, nicht mit Sicherheit möglich gewesen. Um so mehr bin ich Hrn. Prof. Dr. H. Huppert zu Danke verpflichtet, der mir hier helfend zur Seite trat und von dem die nachfolgenden Angaben herrühren. Ursprünglich zu meiner eigenen Orientierung bestimmt, wurde mir gestattet, sie hier zu veröffentlichen, und ich darf wohl annehmen, dass sie auch anderen Fachgenossen nützlich sein werden. Denn es lässt sich nicht verkennen, dass die Kenntnis von der Beziehung, in welcher die chemische Konstitution der Farbstoffe zu ihrem Färbungsvermögen steht, theoretischen und praktischen Wert besitzt. — Aus den vorliegenden Beobachtungen lassen sich folgende Schlüsse ableiten.

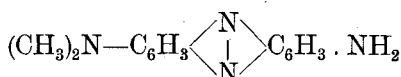
Das lebende Gewebe nimmt nur basische Farbstoffe auf, saure dagegen nicht, und zwar solche basische Farbstoffe, welche entweder den einfachen Ammoniakrest NH_2 enthalten, oder einen solchen, in welchem der Wasserstoff durch ein der fetten Reihe angehöriges Alkoholradikal (Methyl, CH_3 oder Äthyl, C_2H_5) vertreten ist.

Diese Farbstoffe gehören mehreren in ihrer chemischen Konstitution¹⁾ verschiedenen Gruppen an. Das Färbungsvermögen ist also nicht an eine einzige Konstitution gebunden, aber für die Gewebsbestandteile, welche gefärbt werden, ist die Konstitution von einer gewissen Bedeutung.

Von den Granula färbenden Stoffen gehören den Azo-Farbstoffen an das Bismarckbraun

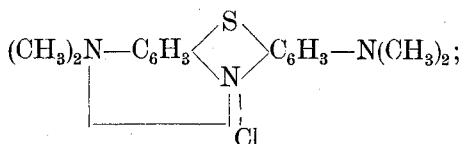


den Azinderivaten gehören an das Neutralviolett

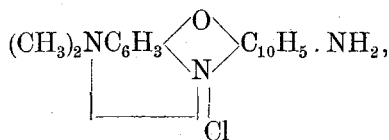


und das Neutralrot (Toluylenrot); dieses unterscheidet sich vom Neutralviolett darin, dass es statt des Anilinrestes $\text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{NH}_2$ den Toluidinrest $\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_2 \cdot \text{NH}_2$ enthält.

Das Methylenblau ist ein Thiazin



das Nilblau ein Oxazin

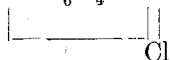


es enthält, was nebensächlich ist, statt eines Anilinrestes den Naphthylaminrest $\text{C}_{10}\text{H}_5 \cdot \text{NH}_2$.

Die drei verschiedenen Azine sind nach der Art, wie in ihnen die aromatischen Hälften vereinigt sind, untereinander verwandt.

¹⁾ Für die Orientierung über den chemischen Bau der Farbstoffe kann auf das schon citierte Lehrbuch der Farbenchemie von Georgievicz und auf das bekannte Werk von Richter, Organische Chemie, bearbeitet von Anschütz, 2. Band, Bonn, 1900, verwiesen werden.

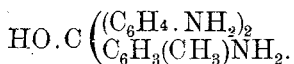
Von den diffus färbenden Stoffen ist das Bindschedlersche Grün ein Indamin $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{CH}_3)_2$,



das Chrysoidin ein Azofarbstoff $\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NH}_2)_2$,

das Auramin ein Ketonimid $(\text{NH})\text{C}[\text{C}_6\text{H}_4.\text{N}(\text{CH}_3)_2]_2$, ein Abkömmling des Benzophenons $\text{OC}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$.

Zu den Rosanilinen gehören das Methylviolett und Dahlia. Rosaniline giebt es zweierlei: das Pararosanilin $\text{HO}.\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4.\text{NH}_2)_3$, und das Homorosanilin



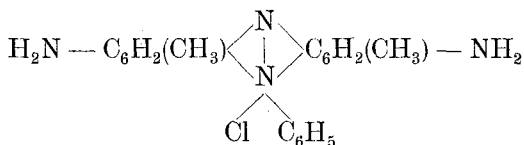
Das Homorosanilin enthält statt eines Anilinrestes einen Toluidinrest. Das Methylviolett $\text{HO}.\text{C}[\text{C}_6\text{H}_4.\text{N}(\text{CH}_3)_2]_3$ ist ein Abkömmling des Pararosanilins, in welchem der Wasserstoff des NH_2 durch CH_3 ersetzt ist. — Dahlia ist wesentlich äthylirtes Pararosanilin.

Von besonderer Bedeutung für das Färbungsvermögen ist der Ersatz von Wasserstoff im Amid durch Alkoholradikale und die Art dieser Radikale.

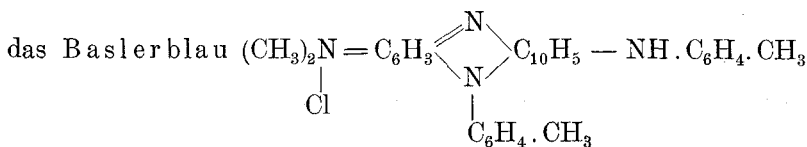
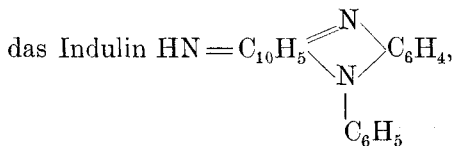
Der Eintritt von Methyl (CH_3) ruft entweder das Färbungsvermögen erst hervor oder verstärkt ein schon vorhandenes. Rosanilin, welches nur NH_2 -Gruppen enthält, färbt nicht, aber dem methylierten und äthylirten Pararosanilin (Methylviolett und Dahlia) kommt diese Eigenschaft zu. Das Lauthsche Violett, welches nur schwach (diffus) färbt, besitzt dieselbe Konstitution, wie das Granula färbende Methylenblau, enthält aber nur NH_2 -Gruppen. Von den untersuchten Indaminen enthält das Phenylenblau gar kein Methylamin, das Toluylenblau nur zwei solcher Gruppen, das Bindschedlersche Grün aber vier, und von diesen färbt nur das an Methylamin reichste. Das letzterwähnte Beispiel ist aber zu einem Vergleiche, und zwar wegen der Giftigkeit des Bindschedlerschen Grüns, nicht ganz geeignet.

Im Gegensatz hierzu geht denjenigen basischen Farbstoffen das Färbungsvermögen ab, welche an Stelle des einfachen Ammoniakrestes oder neben $N(CH_3)_2$ einen Anilinrest enthalten. Das ist der Fall beim (Ros-) Anilinblau $HO \cdot C(C_6H_4 \cdot NHC_6H_5)_3$, welchem dieselbe Konstitution zukommt, wie dem Methylviolett, nur enthält es statt der drei $N(CH_3)_2$ Gruppen drei Anilinreste NHC_6H_5 . Das Viktoriablau $HO \cdot C \left(\begin{smallmatrix} C_6H_4 - N(CH_3)_2 \\ C_{10}H_6 - NHC_6H_5 \end{smallmatrix} \right)_2$ färbt nicht, obwohl es neben dem Anilinreste zwei Methylamingruppen enthält. Allerdings ist das Viktrioblau giftig.

In demselben Sinne büßen solche basische Farbstoffe das Färbungsvermögen ein, in welchen die aromatischen Bestandteile in derselben oder in ähnlicher Weise wie bei den Azinen durch zwei Stickstoffe zusammengehalten werden, wenn einer der Stickstoffe noch ein aromatisches Alkoholradikal aufgenommen hat. Es färben somit nicht das Safranin, ein Azinabkömmling

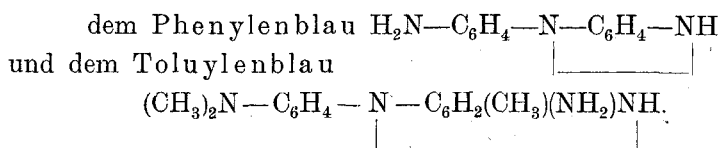


und das Janusgrün, welches gleichfalls ein Safranin ist, ferner



das den Indulinen angehörige Echtblau und das ihnen verwandte Nigrosin.

Der Vollständigkeit wegen sei hier wiederholt, dass die nur einfache Amide enthaltenden Rosaniline (Fuchsine) kein Färbungsvermögen besitzen. Sie sind nicht zu verwechseln mit dem Fuchsin S, Säurefuchsin, einer Sulfonsäure. Ebenso geht das Färbungsvermögen ab den alkylaminfreien oder daran armen Indaminen,



Weil sauer färben nicht die 1. Sulfonsäuren der Azofarbstoffe: Kongorot, Orange, Bordeaux, Echtröt, Echthgelb (Säuregelb), Ponceau, Crocein, Roccellin, Azoblau, Tropaeolin, Helianthin, auch dann nicht, wenn sie, wie das Kongorot und das Echthgelb, Amide enthalten, also zugleich basischer Natur sind.

2. Die Sulfonsäuren des Rosanilins. Säurefuchsin ist das saure Natriumsalz der Di- und Trisulfonsäuren des Fuchsins; Alkaliblau ist das Natriumsalz der Monosulfonsäure; Wasserblau das Natriumsalz der Disulfonsäure des Rosanilinblaus; das letztere selbst färbt, wie bereits bemerkt, gleichfalls nicht.

3. Das Alizarin, welches zwar in spezifischer Weise die Knochen aber keine Granula in den Zellen selbst färbt, ist als Sulfonsäure im Handel.

4. Indigoblau wird (infolge des gleichen Umstandes) als Indigoschwefelsäure verwendet.

Andere saure Farbstoffe haben den sauren Charakter von den Bestandteilen übernommen, aus welchen sie entstanden sind. Das Tartrazin¹⁾, ein Abkömmling der Dioxyweinsäure und des Phenylhydrazins, enthält noch ein Carboxyl (COOH) aus der Weinröure und zugleich zwei Sulfonsäuren.

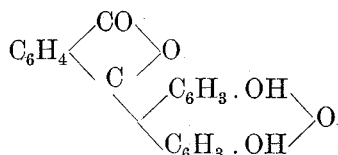
¹⁾ COOH

C=N

C=|N-NH.C₆H₄.SO₃H

CO.N-C₆H₄.SO₃H.

Eine Reihe der verwendeten Farbstoffe gehört den Phthaleinen an, Verbindungen von Phthalsäureanhydrid $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{array}{c} \text{CO} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ und zwei Molekulan Resorcin $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$. Im Fluorescein



haben sich die beiden Resorcine unter Anhydridbildung vereinigt, es sind aber noch zwei (basenbindende) Hydroxyle übrig geblieben. — Das Uranin ist das Kali- oder Natronsalz des Fluoresceins; im Rose bengale sind je zwei Atome Wasserstoff der Resorcinreste durch Jod ersetzt, im Eosin durch Brom; das Phloxin enthält ausserdem noch zwei Atome Chlor im Benzolrest der Phthalsäure. — Der saure Charakter ist auch noch dem Rhodamin erhalten, einem Fluorescein, welches an Stelle der beiden OH die basischen Gruppen $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ enthält. Der saure Charakter könnte dem Resorcinanhydrid (oder auch dem Phthalsäureanhydrid) zugeschrieben werden. — Das Cörulein ist den Phthaleinen insofern verwandt, als es aus Phthalsäureanhydrid und Pyrogallol $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$ entsteht.

Anhydride von Phenolen stellen ferner das Indophenol $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}-\text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{O}$, dessen Leukoverbindung die Zu-

sammensetzung $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{HN}-\text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{OH}$ hat und das

Pyronin $\text{CH} \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \end{array} \begin{array}{c} -\text{N}(\text{CH}_3)_2 \\ -\text{N}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$ dar. In dieser Hinsicht gleicht

das Pyronin dem Rhodamin.

Zu den Phenolanhydriden lassen sich rechnen das Hämatoxilin $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$, welches bei der Zersetzung leicht Resorcin und Pyrogallol liefert, und sein Oxydationsprodukt Hämatein $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$.

An diese schliesst sich an das Orcein $C_{28}H_{24}N_2O_7$; es entsteht aus Orcin, einem Dioxytoluol $CH_3C_6H_3(OH)_2$ durch Oxydation in ammoniakalischer Lösung an der Luft und verbindet sich, wie die Phenole, mit Basen.

Andere der untersuchten Farbstoffe, wie Akridinorange, Korallin u. a. entziehen sich in Bezug ihres Färbungsvermögens wegen ihrer giftigen Eigenschaften einer näheren Beurteilung.

Die Ursache der Giftigkeit lässt sich aus der chemischen Konstitution nicht ermitteln. In vielen Fällen kommt hier auch der Umstand in Betracht, dass die angewendeten Farbstoffe nur durch die Art der Verbindung, in der sie im Handel vorkommen (Anilingelb z. B. könnte durch die in ihm enthaltene Oxalsäure giftig wirken), oder aber eventuell durch Verunreinigungen von ihrer Fabrikationsweise her, giftige Eigenschaften erhalten.

So viele Beziehungen sich auch aus den voranstehenden Ermittlungen zwischen der chemischen Konstitution und dem Färbungsvermögen ergeben haben, so tritt doch eine unverkennbare Elektivität des lebenden Gewebes den Farbstoffen gegenüber hervor. Zwar lässt sich aus den gewonnenen Resultaten mit grosser Sicherheit schon im Voraus angeben, dass gewisse Substanzen infolge ihrer chemischen Konstitution nicht färben werden; wenn wir aber auch wissen, dass ein Farbstoff, um vital färben zu können, basisch, und das zwar in einer ganz bestimmten Form, sein muss, so lässt sich doch nicht a priori behaupten, dass alle in dieser Art zusammengesetzten Stoffe das lebende Gewebe unbedingt färben müssen. Das lebende Gewebe wahrt vielmehr seine Elektivität unter allen Umständen, es weist zwar Farbstoffe einer gewissen Zusammensetzung stets zurück, nimmt aber anderseits nicht alle diejenigen an, welche einander, ihrer chemischen Konstitution nach, sehr nahe stehen.

Schlussfolgerungen.

Wurde in dem vorangehenden Abschnitte zu ermitteln gesucht, ob sich eine Beziehung zwischen der chemischen Konstitution der angewendeten Stoffe und ihrem „vitalen“ Färbungsvermögen ausfindig machen lasse, so könnte man nunmehr versucht sein, umgekehrt die Frage zu stellen, welcher (chemischen) Natur jene Elemente der Zellen sind, welche sich mit den Farbstoffen verbinden. Allein hier lässt uns die Chemie völlig im Stiche, sie liefert zur Entscheidung dieser Frage gar keine näheren Anhaltspunkte. Ja, im Gegenteil, die Bedeutung der vitalen Färbungsversuche wird in der Zukunft vielleicht gerade darin liegen, dass man sie als eine Art von Farbenreaktionen auf die in den Zellen erst zu ermittelnden Stoffe wird benützen können. Zu einer solchen Verwendung der vitalen Färbung müssten vorher alle die verschiedenen Arten der in den Zellen vermutungsweise vorhandenen Eiweisskörper (in reinem Zustande) auf ihr Verhalten zu den einzelnen Farbstoffen hin geprüft werden; dann erst wäre die Reaktion an den Zellen selbst, deren Granula diese Eiweisskörper wahrscheinlich in mannigfachsten Kombinationen vereinigt enthalten, anzustellen, freilich nur mit gewissen, durch die Unterschiede des Ablaufs der Reaktion am lebenden Gewebe gegenüber der am isolierten Eiweisskörper bedingten Kautelen.

Allein die Benützung der vitalen Färbung in diesem Sinne liegt noch in weiter Ferne, und so müssen wir uns einstweilen ohne diesen, zweifellos exakteren Weg zu behelfen suchen und uns mit dem begnügen, was sich auf Grund der bisher gewonnenen biologischen und mikroskopischen Erfahrungen über die Natur jener in den Zellen enthaltenen färbbaren Gebilde aussagen lässt.

Das histologische Grundprinzip jeder wirklichen, d. h. für das Leben des Tieres unschädlichen und lange Zeit bewahrten vitalen Färbung ist das Hervortreten von Granulis im

Zelleibe (und zwar nur in diesem); niemals werden Fäden, Netze oder Waben sichtbar, nie färbt sich der Kern.

Nun sind Granula seit langem in den Zellen nachgewiesen worden. Béchamp und Estor haben ihnen unter dem Namen „Mikrozymas“, Altmann unter demjenigen von „Bioblasten“ eine grosse Bedeutung beigelegt. Allein sie wurden nur an fixierten Präparaten dargestellt und können daher, wie Fischer gezeigt hat, blosse Fällungsprodukte von Eiweisskörpern sein, erzeugt durch die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit auf das im lebenden Zustande möglicherweise granulafreie, homogene Plasma. Dieser Einwand fällt aber bei unseren Versuchen vollkommen weg, hier wurde ja nicht fixiert, sondern lebende Objekte wurden gefärbt.

Wie verschieden die Antwort auf die Frage, was sich im lebenden Objekte färben lässt, bei Denjenigen lautet, welche sich bisher mit vitalen Färbungsversuchen beschäftigt haben, das habe ich bereits in meiner früheren diesbezüglichen Arbeit erörtert. Die allgemeine Meinung geht aber dahin, dass es sich um keine Färbung des lebenden Protoplasmas handelt¹⁾. Ich habe schon in der erwähnten Arbeit erklärt, dass dieser Glaube „nur einem Vorurteile entspringt, das wir gegenüber der Färbungsmöglichkeit lebender Materie überhaupt hegen, trotzdem sie, wie mir scheint, theoretisch ganz wohl denkbar ist“. In dieser Überzeugung bin ich durch meine neuen Versuche nicht nur bestärkt, sondern auch veranlasst worden, diesem Vorurteile gegenüberzutreten und (hier) die Färbbarkeit des lebendigen, tierischen Protoplasmas als zweifellos möglich

1) Fischer z. B. leitet einen Abschnitt seines Werkes (S. 181) mit den Worten ein, dass es „eine allbekannte Thatsache“ sei, dass lebendes Plasma und lebende Kerne sich nicht färben. Für das Plasma der Pflanzenzelle hat aber schon Pfeffer, für ihren Kern Campbell Färbbarkeit im Leben behauptet. Im Protoplasma färben sich, nach Pfeffer, distinkte Elemente, wie Mikrosomen, Grana, Vakuolen.

und in einigen Fällen als erwiesene Thatsache hinzustellen.

Die Einwände, welche gegen die letztere vorgebracht wurden, sind mannigfacher Art. Galeotti war der Meinung, dass es sich bei der Vitalfärbung um einen Farbstoffniederschlag oder um eine Art Phagocytose der Farbstoffteilchen handle. Teichmann stellte sich vor, dass das durch die Einwirkung des Farbstoffes geschädigte Protoplasma in Körnchenform ausfalle. Alle diese Einwände (oder richtiger Meinungen), werden aber durch die direkte Beobachtung der bei der vitalen Färbung stattfindenden Vorgänge selbst widerlegt. Es hat schon O. Schultze, in letzter Zeit auch Arnold¹⁾, der übrigens die Frage, ob wirklich eine vitale Färbung möglich ist, noch offen lässt, in richtiger Weise darauf hingewiesen, dass jene Elemente, welche den Farbstoff annehmen, sich auch schon in der ungefärbten normalen Zelle nachweisen lassen. Was sich färbt, ist also etwas in der Zelle Präformiertes, es wird nicht erst in sie hineingetragen oder in ihr durch Schädigung ihres Protoplasmas künstlich erzeugt.

Fischer hat in seinem Werke in überzeugender Weise dargethan, dass die Färbung histologischer Elemente sehr wesentlich von ihrer Grösse abhängt. Diese Angaben Fischers beziehen sich und gelten nur für fixierte Präparate, welche, im Gegensatz zu dem hier besprochenen Materiale, Fällungsprodukte mit einem von den lebenden Granulis ganz verschiedenen²⁾,

1) Als hier in Betracht kommend sehe ich nur die in letzter Zeit publizierten Versuche Arnolds mit Methylenblau und Neutralrot an. Gegenüber seinen früheren, mit Jodkaliumlösungen angestellten Versuchen scheint mir der Einwand Flemmings, dass durch sie Macerationsquellen verursacht wurden, vollkommen berechtigt zu sein.

2) Die Auffassung des Aggregatzustandes des lebenden Plasmas selbst ist allerdings bei den verschiedenen Autoren eine verschiedene (vgl. die Ansichten Brückes, Flemmings, Heidenhains, Rhumblers und Albrechts).

nämlich festen Aggregatzustande enthalten; und solche rein mechanische Affinitäten können die Objekte der Färbung eben nur dann entwickeln, wenn sie sich im festen Aggregatzustande befinden. Doch, wollten wir trotzdem vielleicht einen Moment daran denken, dass auch bei der vitalen Färbung physikalische Verhältnisse, wie die Grösse der Granula, die wesentliche Rolle spielen, so sprechen die ermittelten Thatsachen direkt dagegen: Die Grösse der Granula ist, wie namentlich aus dem Verhalten der, Granula der verschiedensten Grösse enthaltenden, Zellen bei *Rana temporaria* hervorgeht, für den Färbungseffekt nicht entscheidend, denn gleich grosse Granula einer Zelle können bei Einwirkung eines und desselben Farbstoffes gefärbt werden oder aber farblos bleiben.

Sind nun auch die Granula in den Zellen präformiert und ist auch ihre Grösse von keinem ersichtlichen Einflusse auf ihre Färbung, so brauchten sie immerhin noch nicht lebendes Plasma zu sein. Sie könnten auch, wofür sie Ehrlich hält, Stoffwechselprodukte oder, nach Koellikers Ausdruck, passive Produkte des Plasmas oder der Energide sein. Es ist ja, wie ich schon in meiner früheren Arbeit zugab, sicher, dass gerade viele tote Elemente in der Zelle oder in den Geweben manche Farbstoffe begierig annehmen. So sind denn auch gewiss manche bei der vitalen Färbung hervortretende Körnchen nichts anderes als z. B. (in Drüsen) Vorstufen von Sekretbestandteilen oder sonstige, durch den Stoffwechsel in der Zelle erzeugte Produkte. Von diesen, welche später noch aufgezählt werden sollen, abgesehen, zeigen aber die übrigen Granula einige Eigenschaften, welche sie als lebende Elemente der Zellen charakterisieren.

Hier ist zunächst ihre so scharf ausgeprägte Elektivität den Farbstoffen gegenüber zu erwähnen. Wären die dargestellten Granula nur Abfallsprodukte des Stoffwechsels der Zelle, so würden sie auch relativ einfach zusammengesetzte chemische Körper darstellen. Dann aber stünde zu erwarten, dass sie sich zu

Farbstoffen, welche in ihrer chemischen Zusammensetzung einander ähnlich sind, auch in ähnlicher Weise verhalten. Das thun denn auch jene Granula, von welchen nach ihrer Art und nach ihrer Lage schon von vorne herein zu vermuten ist, dass sie thatsächlich Produkte des Stoffwechsels der Zelle darstellen: So z. B. jene an der freien Seite der Zellen der Drüsenöffnungen und Hautsinnesorgane befindlichen Granula, welche die zahlreiche Farbstoffe, und namentlich die zu einer und derselben Gruppe gehörigen, in gleicher Weise annehmen. Ihnen ähnlich verhalten sich auch die Pigmentkörnchen. Die übrigen Granula aber sind den Farbstoffen gegenüber sehr wählerisch; ohne Rücksicht auf Ähnlichkeit der chemischen Konstitution weisen sie den einen ab und nehmen den anderen an¹⁾. So nimmt unter den versuchten Thiazinen das Methylenblau eine besondere Stellung in dieser Hinsicht ein, unter den einfach basischen Azofarbstoffen das Bismarckbraun, unter den Oxazinen das Nilblau u. a. m. Die Zahl solcher Beispiele liesse sich zweifellos wesentlich steigern, wenn eine noch grössere Menge von Farbstoffen, als es hier geschah, geprüft würde. —

Sehen wir von den Granula färbenden Stoffen ab, so gilt von den übrigen, dass sie, wenn sie nicht direkt giftig wirken, zumeist gar nicht vom lebenden Tiere angenommen werden, und zwar auch dann nicht, wenn sie ihm in starker Lösung angeboten werden. Von den hier geprüften Stoffen gehört die überwiegende Mehrzahl in diese Reihe; Vertreter fast aller chemischen Gruppen gehören ihr an. Sieht man, wie die Larven tagelang in solchen starken Lösungen gehalten werden können, ohne auch nur eine Spur des Farbstoffes anzunehmen, so ist man unwillkürlich versucht, dem Ausspruche Galeottis

1) Ein gutes Beispiel hierfür liefert auch eine Angabe von Michaelis: „Ändert man das Molekül des Janusgrün nur ganz wenig, nimmt man statt des Diäthyl- ein Dimethyl-Safranin, so ist die körnchenfärbende Eigenschaft sofort vernichtet“.

beizupflichten, dass die lebende Zelle sich gegen die Aufnahme von Farbstoffen förmlich „wehrt“; allein die Beobachtung, dass andererseits gewisse Farben angenommen und monatelang ohne Schaden vertragen werden, und namentlich die hochgradige Elektivität jener sich färbenden Elemente in der Zelle spricht dagegen, dass die letzteren nur tote Zerfalls- und Stoffwechselprodukte des lebenden Zellleibes darstellen.

Im Einklange hiermit steht auch das Resultat der letzten, noch zu erwähnenden Farbstoffgruppe: Ihre Vertreter wurden zwar nicht gänzlich abgewiesen, sie färbten aber keine distinkten Zellelemente, sondern verliehen den Larven nur eine diffuse Färbung. Sie werden offenbar, ohne besonders schädlich zu wirken, einfach nur in den Gewebssäften gelöst, ohne eine Verbindung mit dem Zellplasma selbst einzugehen. Bemerkenswert und mit unserer früher gegebenen Auffassung dieser Gebilde übereinstimmend ist es aber, dass die Granula in den Zellen der Drüsenöffnungen und Hautsinnesorgane und, bis zu einem gewissen Grade, auch die Pigmentkörnchen diese Farben zumeist annehmen (vgl. die Fig. 11, 12 und 14), die anderen, als lebend angenommenen Elemente, sie dagegen zurückweisen. Auch hier also tritt die Elektivität der Granula deutlich hervor.

Diese letztere Eigenschaft lässt sich aber auch an den als Teile des lebenden Protoplasma angenommenen färbbaren Körnchen selbst im Einzelnen nachweisen: Dieselben Granula in den Zellen der oberflächlichen Epithellage der Haut, welche sich mit dem Neutralrot z. B. verbinden, lehnen das Methylenblau ab; dieses wird aber wiederum von den Granulis in den Schaltzellen mit ganz besonderer Begierde angenommen und, trotzdem sie auch zum Neutralrot lebhaft Affinität besitzen, nehmen sie es, wenn sie einmal mit Methylenblau gefärbt sind, nur nach längerem Aufenthalte in seiner Lösung an, während sie es umgekehrt gegen Methylenblau sofort eintauschen. — Die Affinität

der Granula der oberflächlichen Epithellage zu den sie färbenden Körpern ist eine sehr verschiedene; während das Neutralrot (und fast ebenso das Bismarckbraun) in gewissen Zellen unverändert durch die ganze Larvenperiode behalten wird; wird das ihm so nahe stehende Neutralviolett sehr bald abgegeben und auch die Verbindung der Granula mit dem Nilblau ist eine nur ganz kurze Zeit dauernde. — Eine so sorgfältige Individualisierung gegenüber den Farbstoffen, wie sie sich in diesem Verhalten zeigt, wäre bei toten, relativ einfach zusammengesetzten und einfacher reagierenden Produkten des Stoffwechsels der Zellen kaum möglich.

Nur in bedingtem Grade lässt sich dagegen auf Rechnung der Elektivität der Umstand setzen, dass zahlreiche Farbstoffe sich bei meinen Objekten ganz anders verhielten als an den von anderen Autoren untersuchten. So fand, um nur einige Beispiele anzuführen, Certes, dass sich lebende Leukocyten mit dem Cyanin färben lassen, das sich für meine Larven als Gift erwies; Przesmicky konnte mit Auramin distinkte Färbungen erhalten und Pfeffer mit einigen hier als Gifte oder als unwirksame Stoffe bezeichneten Farben eine Tinktion des Protoplasmas der Pflanzenzelle erzielen: In allen diesen Fällen handelt es sich um ein von dem meinigen verschiedenes Untersuchungsmaterial und die Differenz der Resultate liesse sich, ob man nun die Färbung als vital auffasst oder nicht, auf eben diese Verschiedenheit zurückführen.

Das Gleiche gilt auch für jene Fälle, bei welchen die Farbstoffe in einer von der hier angewendeten verschiedenen Art auf die Tiere einwirkten: Es ist von wesentlichem Einflusse auf den Erfolg der Färbung, ob man einen Farbstoff durch Injektion in die Blut- oder Lymphbahn, oder durch Verfütterung oder endlich, wie in unseren Versuchen, durch das Medium, in dem die Tiere leben, auf die Gewebselemente der letzteren einwirken lässt. Michaelis hat vor kurzem auf das Janusgrün (Diäthyl-

safraninazodimethylanilin) als vortrefflich für vitale Färbungen geeignet hingewiesen. Bei unseren Larven erwies es sich als völlig unwirksam. Das kommt wahrscheinlich auf Rechnung der Verschiedenheit der Objekte — Michaelis hat an Rana, Triton und Säugetieren gearbeitet —, gewiss aber auch auf Rechnung der verschiedenen Anwendungsart (Injektion). — Auf ähnliche Verschiedenheiten beim Methylenblau hat schon O. Schultze aufmerksam gemacht und es als gewiss sehr auffällig bezeichnet, „dass einerseits die Methylenblau-Infusion Ehrlichs keine Granulafärbung und andererseits die Aufnahme des Farbstoffes vom Darms (zum Teil wohl auch von der Haut) aus keine Nervenfärbung nach sich zieht“.

Ist aber auch die Farbenreaktion bei verschiedenen Objekten und namentlich bei verschiedener Untersuchungsmethode nicht immer die gleiche, so sehen wir doch, dass gewisse Farbstoffe sich bei allen auf vitale Färbung hin untersuchten tierischen Organismen als positiv wirkend erwiesen haben¹⁾. Wenn nun aber die Amöbe oder die Zelle einer Spongie und die verschiedensten Gewebselemente eines

¹⁾ Ich verweise hier nur auf die Angaben von Przesmicky, Prowazek, Loisel, Mitrophanow, O. Schultze, S. Mayer, J. Arnold u. a. Auf eine ausführliche Darstellung der Litteratur kann ich hier nicht eingehen, auch nicht, wie ich gleich bemerken will, in dem späteren, allgemeinen Fragen über Zellstrukturen gewidmeten Kapitel. Ihrer Wichtigkeit entsprechend sind diese Gegenstände Anlass zu zahlreichen Arbeiten gewesen, deren genaue Aufzählung weit über den Rahmen dieser Mitteilung hinausgeht. Ich werde nur einzelne von ihnen, soweit es notwendig erscheint, ausdrücklich im Texte erwähnen und verweise im übrigen auf das beigegebene Litteraturverzeichnis, welches, wenn es auch naturgemäss nicht den Anspruch auf Vollständigkeit erhebt, dennoch die wichtigeren jener Arbeiten enthält, welche für die hier erörterten Fragen in Betracht kommen. Im übrigen hat, bis in die letzte Zeit, Flemming ausgezeichnete Referate über diese Arbeiten geliefert, auf welche ich verweisen hier kann. — Während des Druckes dieser Arbeit erschien eine Mitteilung von Plato („Über die vitale Färbbarkeit der Phagocyten des Menschen u. s. w.“, Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 56, H. 4), deren Resultate zwar für die Färbbarkeit von Leukocyten und intracellulären Mikroorganismen wichtig sind, eine Verallgemeinerung aber nicht erlauben.

Amphibiums oder Säugetieres nach Behandlung mit diesen Farbstoffen (Methylenblau¹⁾, Neutralrot, Bismarckbraun und Nilblau) übereinstimmend Granula in ihrem Plasma hervortreten lassen, so ist das wohl eher darauf zurückzuführen, dass diese letzteren gewisse, allen tierischen Plasmaarten gemeinsame Bestandteile, nicht aber ihnen allen in gleicher Weise zukommende Stoffwechselprodukte darstellen. Denn die letzteren werden schwerlich (auch in annähernd gleicher Menge) in der Amöbe dieselben sein wie z. B. in der Hautepithel-, oder Ganglien-(Arnold), oder Knorpelzelle einer Amphibienlarve, wohl aber ist, nach allgemeiner Meinung, der Grundtypus der Zusammensetzung des tierischen Protoplasma, trotz spezifischer Verschiedenheiten im Einzelnen, ein einheitlicher und demgemäss auch ähnlich reagierender. Die von ihm erzeugten Stoffwechselprodukte müssen aber bei den verschiedenen Tieren, infolge ihrer verschiedenen Nahrung und Organisation, wesentlich verschiedene sein.

Auf einen Unterschied der Granulierung dagegen soll zunächst hier kein Gewicht gelegt werden: Wenn in verschiedenen Zellarten desselben Tieres oder in der gleichen Zellform bei verschiedenen Larvenarten ganz konstant eine für jede von ihnen charakteristische vitale Färbungsart zu erzielen ist, wenn Zahl, Grösse und Lagerung der Granula in ihnen stets eine gerade nur für sie typische ist — ich erinnere hier an die Schalt-, die Flimmer- und die gewöhnlichen Epithelzellen, welche letztere an den verschiedenen Körperstellen verschieden granuliert sind — so braucht man noch nicht gleich an Verschiedenheiten ihres Protoplasmas zu denken; denn in diesen verschiedenen Zellarten könnten ja auch die Stoffwechselprodukte in verschiedener Form und Anordnung angehäuft und daher ihre Färbung eine typisch verschiedene sein.

¹⁾ Das Plasma der Pflanzenzelle wird durch diesen Körper, nach Pfeffer, nicht gefärbt.

Ist aber auch aus diesem Grunde die Form und Anordnung der Granula als Stütze für unsere Schlussfolgerung zunächst nicht zu verwenden, so ist es doch, in gewissen Zellen wenigstens, ihre Zahl. Diese müsste, wenn man die Granula für blosser Abfallsprodukte des Stoffwechsels der Zellen halten würde, in den meisten der letzteren eine auffallend grosse genannt werden. Allein würden wir auch diese Möglichkeit für die meisten Zellformen zugestehen, jene vorne am Kopfe und in der kreisförmigen, Flimmerzellen enthaltenden Zone um die Nasenöffnung befindlichen Zellen würden diese Ansicht als nicht haltbar erscheinen lassen: Denn sie sind, besonders nach Neutralrotfärbung (Fig. 46, Taf. XLII) so ausserordentlich dicht von (gefärbten) Granulis erfüllt, dass man an ihnen fast nichts anderes als eben die Granula wahrnehmen kann. Wären hier die gefärbten Elemente thatsächlich nur Abfallsprodukte des Stoffwechsels, so müsste man sich billigerweise fragen, wo denn eigentlich die lebendige Substanz dieser Zellkörper vorhanden sei, und es wäre ganz undenkbar, dass die verschwindend geringe Menge derselben eine im Vergleiche mit ihr so kolossale Menge „passiver Produkte der Energie“ ständig und normalerweise liefern könnte. Die Reaktion dieser Zellen spricht entschieden dafür, dass hier eine Färbung eines lebendigen Bestandtheiles¹⁾ des Zellkörpers vorliegt; was aber für sie gilt, gilt wohl auch für die anderen Zellformen und daraus folgt des weiteren, dass jene erwähnten, typisch verschiedenen Granulie-

1) Ich möchte hier ausdrücklich bemerken, dass ich diesen Satz nur für die granulären Elemente und, im Besonderen, für die von mir untersuchten Objekte vertrete. Ob aber auch anderen zur vitalen Färbung gerechneten Reaktionen, wie z. B. der Methylenblaufärbung der Nervenfasern, die gleiche Bedeutung zukommt, lasse ich hier unentschieden. Ein Beweis dafür, dass solche gefärbte Nerven noch funktionieren liegt nicht vor und es kann dies daher auch bezweifelt werden (Fischer). — Die hier gefärbten Zellen funktionierten aber gewiss noch lange nach ihrer Färbung.

rungsarten auch typisch verschiedenen Plasmaarten entsprechen dürften.

Wie auf die soeben erwähnte Zellform, so darf ich wohl auch, in gleicher Begründungsweise, auf die Reaktion der Klammatocyten hinweisen: Ihre so zahlreichen, regelmässig geformten und gruppierten Farb-Granula dürften wohl eher protoplasmatische Elemente, als tote Produkte der chemischen Vorgänge in der Zelle darstellen.

Im Einklange mit dieser Erklärungsart der histologischen Befunde steht auch der folgende Umstand. Gegenüber den Granula färbenden Stoffen im Besonderen besteht, wie erwähnt wurde, eine Elektivität auch in dem Sinne, dass sie verschieden lange von den Granulis festgehalten werden, am längsten das Neutralrot. Wenn wir nun sehen, dass das Hautepithel einer damit gefärbten Larve noch sieben Monate nach vollzogener Färbung das in der Fig. 44 wiedergegebene Bild darbietet, das sich nur in einem — für unsere Auffassung aber gerade günstigen — Punkte von dem unmittelbar nach der Färbung erhaltenen unterscheidet, so können wir wohl unmöglich daran denken, dass es sich hier um eine Färbung von Stoffwechselprodukten handelt. Es ist, wie ich glaube, undenkbar, dass die Stoffwechselprodukte in den Zellen eines ganzen Organes durch volle sieben Monate unverändert in Zahl, Form und Lage verbleiben, während die Tiere, wenn auch in etwas herabgesetzter, so doch in normaler Weise alle ihre Funktionen versehen. Irgend welche, wenn auch geringfügige Änderungen müssten sich da konstatieren lassen. Dass sie übersehen worden wären, ist sehr unwahrscheinlich, denn die Larven wurden kontinuierlich während dieser Zeit untersucht und es wurde gerade auf diesen Punkt, wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, ganz besonders geachtet. Keinesfalls besaßen diese eventuell doch vorhandenen Änderungen einen irgendwie der langen

Beobachtungsdauer entsprechenden und zur Stütze der hier bekämpften Anschauung verwertbaren Grad.

Das Bild in Fig. 44 unterscheidet sich, wie erwähnt, nur in einem Punkte von dem unmittelbar nach der Färbung erhaltenen: Durch die Farblosigkeit der sogenannten Mucingranula der Leydig'schen Zellen. Wie immer man über die Natur derselben denken mag, jedenfalls stellen sie in ihrer Gänze kein völlig normales, lebendes Plasma dar; sie nehmen nun den Farbstoff wohl an, geben ihn aber, im Gegensatz zu den anderen Granulis sehr bald wieder ab, ganz entsprechend unserer Annahme, dass Elemente, welche entweder selbst Stoffwechselprodukte darstellen, oder zu ihnen in naher Beziehung stehen, infolge ihrer rascheren chemischen Umsetzungen sehr bald nach der Färbung ihr Bild ändern müssen.

Werden dagegen die übrigen, lange Zeit unverändert bleibenden Granula als Teile des lebenden Protoplasmas aufgefasst, so ist die Konstanz ihrer Form und Färbung weniger auffällig; Form und Anordnung solcher Plasmaelemente braucht sich zweifellos nicht in ersichtlicher Weise zu ändern, wenn auch die normalen Funktionen nach wie vor von ihnen besorgt werden, und wenn sie auch eine Verbindung mit einem Farbstoffe eingegangen sind. Dass das morphologische Bild einer Zelle für ihre verschiedenen funktionellen Phasen ein verschiedenes sein dürfte, dass wir also von einer „funktionellen Struktur“ (Roux, Albrecht-Schmaus) derselben sprechen können, ist ja sehr wahrscheinlich; allein diese Änderungen werden die Anordnung der lebenden Plasmaelemente, die doch eine typische und gesetzmässige sein muss, kaum in so hohem Grade beeinflussen, dass sie, besonders am lebenden Objekte, auch in auffälliger Weise zu Tage treten müssten, wie dies von Stoffwechselprodukten während einer so langen Beobachtungsdauer ohne weiteres zu erwarten ist. Und was die Färbung dieser

Granula betrifft, so steht es mit ihrer Auffassung als lebender Plasmateilchen sehr wohl im Einklange, dass diese Beladung mit Farbstoffen für die Tiere doch nicht ganz gleichgültig ist. Es wurde schon erwähnt, dass sie ihren ungefärbt gebliebenen Altersgenossen nicht unbeträchtlich an Grösse zurückbleiben, und sich auch viel später zur Metamorphose anschicken¹⁾ — und zwar erst dann, wenn sie den Farbstoff wieder abgegeben haben. Gewisse Affinitäten dieser Plasmaelemente sind eben durch die Farbstoffe gesättigt worden, sodass ihre normalen Funktionen, wenn auch nicht verhindert, so doch beeinträchtigt wurden. Zu Ende der Larvenperiode, bei Beginn der Metamorphose, ändert sich aber der morphologische Charakter der (hier in Betracht kommenden Haut-) Epithelzellen und damit parallel gehen gewiss nicht unbeträchtliche chemische Umsetzungen in ihnen einher, welche zur Abscheidung oder Zersetzung des aufgenommenen Farbstoffes führen.

Aber die Granula sind deshalb nicht geschwunden: Man kann sie sofort wieder in Evidenz bringen, wenn man diese (oder überhaupt abgeblasste) Larven neuerlich in eine Farblösung versetzt. Wenn das Färbungsbild einer so alten Larve sich natürlich, entsprechend den vollzogenen Änderungen des Epithelcharakters, von dem eines sehr jungen Tieres in einigen Punkten unterscheidet, die darstellbaren Granula sind, im wesentlichen die gleichen.

Aus all den angeführten Gründen geht also zweifellos mindestens das hervor, dass jene färbbaren Granula Elemente darstellen, welche konstant und in unveränderlicher Form den Zellen zukommen, also förmlich

¹⁾ Aber nur bei Farbstoffen, welche die hier gemeinten Granula lange Zeit festhalten. Das Nilblauschlorhydrat z. B. wird dagegen rasch von ihnen abgegeben, von den Pigmentkörnchen aber beibehalten. Und so bleiben denn auch diese Larven, trotzdem sie infolge der Färbung ihrer Pigmentkörnchen grün erscheinen, in ihrer Entwicklung den normalen gegenüber nicht zurück.

zu ihrem „eisernen Bestande“ gehören. Solche Elemente sind aber, wofür auch die früher erwähnten Umstände sprechen, aller Wahrscheinlichkeit nach, eher lebende Protoplasmateile als tote, passive Produkte der „Energide“. — Ein diagnostisch absolut sicheres morphologisches Merkmal des „Lebens“ giebt es freilich nicht. Erwägen wir aber alle bisher erörterten Umstände über das Verhalten der Granula, so sprechen sie entschieden zu Gunsten der ausgesprochenen Auffassung derselben. —

Einige Farbstoffe (so das Methylenblau, Neutralviolett, das Nilblau, die Violettfarben) besitzen, wie berichtet wurde, auch die Fähigkeit, die Pigmentkörnchen, wenigstens die in den Epithelzellen befindlichen, zu tingieren. Diese Thatsache ist an sich schon interessant, da sie zeigt, dass diese eine Eigenschaft besitzenden Elemente auch noch Farbenaffinitäten zu entwickeln vermögen; sie ist aber auch mit Rücksicht auf die obigen Erörterungen von Bedeutung: Die Beladung der Pigmentkörnchen mit den Farbstoffen ist, für sich allein, für die Larven vollkommen unschädlich; das zeigt sich sehr deutlich beim Nilblaulorhydrat. Die blauen, nach unserer Auffassung lebendem Protoplasma entsprechenden Granula entfärben sich da sehr bald; die Pigmentkörnchen aber behalten ihre intensiv grüne Farbe ausserordentlich (Monate) lange und trotzdem entwickeln sich diese grüngefärbten Larven ebensogut wie ihre ungefärbten normalen Genossen. Die Pigmentkörnchen stellen eben zweifellos keine, jenen lebenden Protoplasmateilchen funktionell gleichwertige Elemente vor ¹⁾ und ihre Beladung mit Farbstoffen ist daher für die normalen Funktionen der Zellen von keinem ersichtlichen Schaden begleitet. Das zähe Festhalten des einmal angenommenen Farbtones hat nichts Überraschendes

¹⁾ Altmann allerdings fasst, ohne genügende Begründung, auch die Pigmentkörnchen als „Bioblasten“ auf. — Es sind übrigens gewiss nicht alle „Pigment“-Körnchen biologisch gleichwertige Elemente.

an sich, da die chemischen Veränderungen dieser Einschlüsse des Zelleibes wohl nur sehr langsam vor sich gehen werden. Geht die Färbung langsam zurück, so treten die verschiedensten Mischfarben zwischen der normalen und der betreffenden, künstlich erzeugten Tinktion der Pigmentkörnchen auf.

Hinzuweisen wäre hier auch auf den Umstand, dass entsprechend dem angenommenen Gegensatze zwischen Pigmentkörnchen und Granulis, gerade jene Stoffe, welche die Pigmentkörnchen am besten färben, entweder gar keine, oder nur eine unvollkommene Färbung der übrigen (vitalen) Granula hervorrufen. So lassen sich durch die Violettfarben überhaupt keine, durch das Methylenblau nur gewisse Granulaarten färben und die mit Nilblau und Neutralviolett darstellbaren behalten diese Farben weit weniger lange als das Neutralrot, welches seinerseits die (dunklen) Pigmentkörnchen unverändert lässt. — Es ist ferner noch daran zu erinnern, dass im allgemeinen jene Zellen, welche viele Pigmentkörnchen enthalten, wenige Granula aufweisen, und umgekehrt. Pigmentgehalt und granulareiche lebende Substanz stehen in einem gewissen Gegensatze und offenbar ist auch der Stoffwechsel der Zellen je nach ihrem Reichtum an dieser oder jenem ein verschiedener. —

Nicht alles, was sich in der lebenden Zelle färben lässt, braucht übrigens, wie schon die Tinktion der Pigmentkörnchen zeigt, lebendem Plasma anzugehören. Jene amorphen, die Farbstoffe so leicht annehmenden Massen in den Kiemen (Fig. 32 und 55) und im Knorpel (Fig. 31); die eine, fast durch alle Stoffe färbbare Körnchenart in den Zellen der Drüsenöffnungen¹⁾ und Hautsinnesorganen (Fig. 65), sowie wahrscheinlich auch die Körnchen in den roten Blutkörperchen, stehen zu den lebenden Strukturelementen der Zelle in keiner

¹⁾ Ihre eventuelle Beziehung zu Sekretionsvorgängen bleibt hier unerörtert (vgl. die Arbeiten von Müller, Held und Solger).

unmittelbaren Beziehung. Ein striktes Urteil über die verschiedenen Arten der Granula in den Muskelfasern dagegen wage ich nicht zu fällen, wie es ja überhaupt in einzelnen Fällen nicht leicht möglich sein wird, gewisse färbbare Granula den lebenden oder leblosen Zellenelementen zuzuzählen. —

Was die Möglichkeit der Darstellung der Granula der ersteren Art betrifft, so kann sie wohl als eine allgemeine bezeichnet werden: Sie sind in den Epithelzellen der Haut und des Darmes, in Endothel-, Drüsen-, Bindegewebs-, Knorpel- und (glatten) Muskelzellen (O. Schultze), in weissen (und roten?) Blutkörperchen und, von Arnold, auch in Ganglienzellen¹⁾ nachgewiesen worden. Die Entscheidung, ob sie alle gleichwertige und gleichartige Gebilde darstellen, dürfte nur durch ausgedehntere Versuche mit Mehrfachfärbungen zu erlangen sein. — Zweifellos dagegen werden sie durch kinetische Vorgänge in der Zelle beeinflusst und erfahren bei der Karyokinese ähnliche Lageveränderungen, wie ich sie für die Granula in den Echinodermeneiern beschrieben habe. Ein Beispiel dafür giebt übrigens die Figur 56 (Taf. XLII): Die am rechten Rande der Figur gezeichnete Schaltzelle, die in Teilung begriffen war, zeigte eine regelmässige Anordnung ihrer Granula in zwei Haufen.

Für alle Farbstoffe gilt aber, ausnahmslos, dass sich Granula nur im Zellleib, niemals im Zellkerne, darstellen lassen. Dieser letztere färbt sich nur dann, und zwar diffus, wenn die Zelle bereits abgestorben ist. Przesmicky und Campbell²⁾ ist es allerdings gelungen, auch an der lebenden Zelle eine Kernfärbung zu erhalten; aber ihre Untersuchungsobjekte (Protozoen, Pflanzen) unterscheiden sich

1) Fraglich bleibt hier ihre Stellung zu den sogen. Nissl-Körpern. Während Flemming, Lénhossek und Arnold die letzteren für präexistente Gebilde halten, erklärt sich Held dagegen.

2) Über die ähnlichen Angaben von Brandt, Certes, Henneguy und Danilewsky vgl. die Referate bei Przesmicky.

einmal sehr wesentlich von den hier benützten und ferner handelt es sich bei ihnen nicht um die für die vitale Färbung charakteristische und für die Erforschung der Zellstruktur allein wichtige Hervorhebung von Granulis, oder um die Färbung distinkter Kernbestandteile (wie der Chromosomen), sondern zu-meist nur um eine diffuse Durchtränkung des Kernes mit dem Farbstoffe. Diese letztere ist auch bei unseren Objekten manchmal beobachtet worden; so konnte besonders bei einigen der Violettfarben, an den leicht tingierten Zellen der ventralen Bauchwand auch der Kern im Ganzen schwach gefärbt erkannt werden, niemals aber traten bestimmte Elemente desselben gefärbt hervor. Nach dem Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen müssen wir den Schluss ziehen, dass sich der lebende Kern, der Metazoenzellen wenigstens, in seiner Reaktion gegenüber den Farbstoffen prinzipiell vom Zellleibe unterscheidet, besonders dadurch, dass sich keine Granulafärbung an ihm darstellen lässt. Da bei der vitalen Färbung rein physikalische Faktoren, wie z. B. die Grösse der Granula, nicht jene Rolle spielen, die ihnen Fischer bei der Färbung fixierter Präparate zugewiesen hat, so liegt es nahe, vor allem an chemische Unterschiede zu denken. Welcher Natur dieselben aber sind, vermögen wir heute nicht anzugeben, so verlockend es auch scheint, an eine Verschiedenheit der Reaktion zu denken: Da nur basische Farben vom Zellleib angenommen werden, so besitzen vielleicht seine Granula, im Gegensatze zu denen des Kernes, eine von der basischen verschiedene Reaktion. Es ist interessant, dass auch die bei der Färbung fixierter Präparate erhaltenen Resultate bisher auf eine ähnliche Verschiedenheit zwischen Zellleib und Zellkern (Acido-, Basophilie u. a.) zurückgeführt wurden ¹⁾; da aber die chemische Theorie

¹⁾ Ehrlich, der das Neutralrot zuerst anwandte, führt die verschiedenen Farbentöne der Granula des Zellleibes gleichfalls auf Verschiedenheiten der Reaktion derselben zurück.

dieser Färbungsart durch Fischer entschieden bekämpft wurde, will ich auf diese Verhältnisse hier nicht weiter eingehen, und verweise nur noch weiter unten auf ähnliche Resultate, zu welchen Altmann bei seiner Methode der Granuladarstellung gekommen ist. —

Diese Erörterungen führen uns zu der Frage, in welcher Weise die lebende Zelle die Farbstoffe in sich aufnimmt. An eine Assimilation, wie sie, ebenso für Farbstoffe, wie für Fette, Altmann, Krehl und Metzner annehmen, ist hier nicht zu denken. Die Art und Weise, in welcher die Epithelzelle Stoffe an sich zu ziehen vermag, hat, ganz allgemein, Czermak präzisiert: Es kann das aktiv, und zwar in diesem Falle durch Phagocytose oder durch Einsaugen (Myzocytose), und passiv durch Diffusion (und Osmose) geschehen. Die erstere Art ist hieraus geschlossen; die zweite kommt, weil nur für kolloide Substanzen geltend, nicht in Betracht, und nur die dritte bleibt also übrig. Allein, wenn auch die Diffusion, nach meiner Meinung, der physikalische Weg ist, auf welchem die Farbstoffaufnahme sich vollzieht, im Näheren ist dieser Vorgang doch noch nicht ganz klar zu übersehen. Rhumbler, der physikalischen Problemen im Zelleben mit ausserordentlicher Vertiefung und Sachkenntnis nachgeht, berührt im Anschlusse an sein Referat über meine frühere Arbeit diese Frage, und ich möchte hier seine Meinung hierüber einfach wiedergeben. Rhumbler erklärt (110, S. 602): „Unabhängig von der Frage, ob lebende oder nicht lebende Substanzen bei den Vitalfärbungen den Farbstoff aufnehmen, bleibt ein mechanisches Problem, wie diese Farbstoffe durch den lebenden Protoplasmaleib hindurchkommen; denn die in dem Protoplasmaleib eingeschlossenen Granula sind nur durch den Plasmaleib hindurch zu erreichen; bei gänzlicher Entfärbung des Aussenwassers wird man kaum annehmen dürfen, dass der Farbstoff durch Diffusion mit Wasser zugleich in den Zelleib eintritt und dann an den Granulis haftet, während das Wasser

wieder nach aussen tritt; denn unter solchen Umständen müssten ungeheure Wassermengen durch den Zellleib hindurchtreten, was bei dem Fehlen einer pulsierenden Vakuole kaum ohne entsprechende sichtbare Strömungen im Aussenmedium, die nicht vorhanden sind, abgehen könnte. Mir scheint die Annahme prüfungswert, dass der Protoplasmaleib der Embryonalzellen die einzelnen Farbstoffteilchen bzw. Farbstoffmoleküle mit seiner Oberflächenschicht auf Grund der oben für grössere — wenn auch immer sehr kleine — Fremdkörper referierten Importgesetze¹⁾ einzeln in sich hineinzieht, und dass dann durch Diffusion im Aussenmedium die von dem Protoplasmaleib weggenommenen Farbteilchen stets durch neue ersetzt werden, sodass die Farbstoffaufnahme von Seiten der Zelloberfläche so lange fortgesetzt im Gange bleibt, als noch Farbstoffteilchen durch Diffusion (im Aussenwasser, also nicht Diffusion im Zellleib) an die Zelloberflächen herangebracht werden. — Moleküle müssen — unter normalen Verhältnissen, d. h. wenn keine sonstigen Kräfte auf sie wirken, bei entsprechender Adhäsion ganz besonders kräftig importiert werden. — Sobald ein Molekül einer gelösten Substanz zu der Protoplasmaoberfläche einer Zelle eine grössere Adhäsion als zu seinem Lösungsmittel besitzt, muss es bei der Berührung der Zelloberfläche in den Zellleib eintreten; das steht fest. Die Adhäsion der Zelloberfläche ist erst dann befriedigt, wenn sie sich hinter dem Molekül geschlossen hat.“

Dass einige Momente dafür sprechen, dass der aufgenommene Farbstoff mit den ihn aufnehmenden Körpern auch eine chemische, wenn auch nur eine lockere Verbindung eingeht, habe ich schon in meiner früheren Arbeit, auf die ich in dieser Hinsicht verweise, ausgeführt. Sicher entscheiden kann ich das naturgemäss nicht. Rhumbler meint, dass von Seite der von ihm referierten

¹⁾ Rhumbler, S. 592. Nach Rhumbler wäre also möglicherweise gerade diese Anziehung von Seite der Oberflächenschicht das Wesentliche, die Diffusion nur ein sekundäres Hilfsmoment.

Importgesetze aus die Annahme einer chemischen Verbindung bei der vitalen Färbung nicht notwendig sei, „da grosse Adhäsion sehr wohl ohne chemische Reaktion bestehen kann, ebenso wie eine Beschränkung der Quantität der annehmbaren Substanz aus den Importgesetzen nicht resultiert, da ja natürlich die Oberfläche, nachdem sie sich über jedem einzelnen Molekül geschlossen hat, sofort wieder für neue Moleküle importfähig sein muss“. Allein er verkennt nicht, dass dann diese Vorgänge, vom Standpunkte der Gesetze der Osmose aus betrachtet, auf namhafte Schwierigkeiten stossen. „Das Protoplasma würde sich den aufgenommenen und dann in ihm suspendierten Molekülen gegenüber voraussichtlich wie ein Lösungsmittel den Molekülen der gelösten Substanz gegenüber verhalten müssen. Der osmotische Druck ist aber vom Lösungsmittel unabhängig; und es könnten sich daher in einer Raumeinheit des Protoplasmas nicht mehr Moleküle der aufgenommenen Substanz ansammeln, als in einer Raumeinheit des umgebenden Mediums. Eine chemische oder wenigstens molekulare Umwandlung der aufgenommenen Substanzen wäre von dieser Seite aus zum mindesten Erfordernis, um die Mehransammlung im Protoplasma zu erklären, ob sie aber allein durch eine solche erklärt werden könnte, bliebe jedoch auch so noch fraglich.“ Der Widerspruch, der hier zwischen den Folgerungen aus den osmotischen Gesetzen und denen aus den Importgesetzen vorliegt, deutet vielleicht, nach Rhumbler, auf noch unbekannte physikalische Wirkungsweisen hin, deren Kenntnis möglicherweise auch jene Widersprüche lösen würde, welche sich bei den Resorptions- und Exkretionsvorgängen von Epithelien gegen die Gesetze der Diffusion ergeben haben. — Die Möglichkeit der Entstehung einer chemischen Verbindung und die gekennzeichnete Anziehungs- und Diffusionswirkung zugegeben, bliebe aber immer noch zu erklären, warum nur der Zelleib, nicht auch der Zellkern, an diesen Vorgängen Teil nimmt.

Galten die bisherigen Erörterungen der Bestimmung des Charakters der Granula und dem Versuche, die Art des Zustandekommens ihrer Färbung zu erklären, so verbleibt uns nunmehr noch, die Bedeutung, welche ihnen hinsichtlich der Architektur des Zelleibes zukommt, zu bestimmen. Sie wäre auch in dem Falle nicht zu unterschätzen, wenn sämtliche Granula toten Inhaltseinschlüssen der Zelle entsprächen; ist aber natürlich um so höher anzuschlagen, wenn sie, nach dem früher Gesagten, zum grössten Teil wenigstens, als lebende Plasmateile anzusehen sind.

Da die herrschenden Ansichten über Zellstrukturen sich vorwiegend auf fixierte Präparate stützen, und für uns zunächst nur die Granulalehre in Betracht kommt, so fragt es sich, wie sich die ihr zu Grunde liegenden auf künstlichem Wege gewonnenen Granulabilder¹⁾ mit den bei vitaler Färbung erzielten vergleichen lassen. Leider liegt zur Entscheidung dieser Frage kein genügendes Material vor. Jene Objekte, die mit den Methoden Altmanns auf Granula hin untersucht wurden, hat man bisher teils gar nicht, teils nicht ausgiebig genug vital zu färben versucht, sodass ein Vergleich der bei beiden Methoden erzielten Resultate nicht durchführbar ist. Dies gilt auch — allerdings in entgegengesetztem Sinne — für meine Untersuchungsobjekte. Es steht aber nach meiner Meinung zu erwarten, dass, sobald ein derartiger Vergleich möglich sein wird, sich eine auffällige Analogie der in bestimmter Weise (mit den Methoden Altmanns und und vielleicht auch Bendas) fixiert und der vital gefärbten Objekte, in einigen Punkten wenigstens,

1) Hierher gehören die Untersuchungen Altmanns und seiner Anhänger, wie auch die von Benda über seine „Mitochondria“.

2) Einen scharfen Ausdruck hat Demoor diesem Unterschiede mit folgenden Worten verliehen: „La vie du noyau est essentiellement différente de celle du protoplasma.“

ergeben wird. Hierfür spricht, dass quergestreifte Muskelfasern nach Behandlung mit den spezifischen Granula-Methoden (Altmann, Galeotti) eine ganz ähnliche Granulierung aufweisen, wie nach der vitalen Färbung. Eine weitere auffällige Übereinstimmung zeigt sich darin, dass auch bei der Altmannschen Färbung fixierter Präparate keine Granula im Kern auftreten. Er selbst macht auf dieses Ergebnis seiner Untersuchungen aufmerksam (S. 50) und schliesst, wie auch hier aus den Resultaten der vitalen Färbung gefolgert wurde, auf durchgreifende Verschiedenheiten zwischen dem Inhalt des Kerns und des Zelleibs²⁾. „Alle unsere Bilder, welche innerhalb des Zelleibs die mit Säurefuchsin gefärbten Granula zeigen, haben daneben den Kern im ungefärbten Zustande.“ So wahrscheinlich also auch eine gewisse Übereinstimmung zwischen den vital und fixiert gefärbten Granulis zu erwarten steht, Sicheres lässt sich hierüber heute noch nicht aussagen und es kann daher auch die eine Methode nichts für die andere beweisen. —

Für die Entscheidung der Frage, welche Bedeutung die Granula hinsichtlich der Zell-Architektur besitzen, muss zunächst festgestellt werden, welche Rolle den Granulis im Leben der Zelle zufällt. Hier kommen zunächst zwei Anschauungen für uns in Frage. Altmann hat bekanntlich den mit seinen Methoden darstellbaren Granulis eine ausserordentlich hohe Bedeutung beigelegt. Für ihn ist die morphologische Einheit der lebendigen Substanz nicht die Zelle, sondern das Granulum, der „Bioblast“ (Plastidule, Maggi). „Der Bioblast ist die morphologische Einheit der organisierten Materie, von welcher alle histologischen Erwägungen in letzter Instanz auszugehen haben.“ Die Zelle ist eine Kolonie von Granulis und die Fäden, die man in ihr wahrnimmt, sind durch Verschmelzung vieler Granula miteinander entstanden. Diese Anschauungen Altmanns¹⁾ sind zu ungenügend unterstützt, um Anspruch

¹⁾ Sie haben durch Münden noch eine phantastische Weiterbildung erfahren.

auf eine allgemeine Anerkennung zu besitzen. Es ist aber Altmanns grosses Verdienst, auf die Granula als zweifellos wichtige Elemente der Zelle hingewiesen und ihre Darstellung in zielbewusster Weise versucht zu haben. Von ihrer Auffassung im Sinne Altmanns bin ich dagegen weit entfernt und glaube übrigens, dass es, mit Rücksicht auf die Untersuchungen Fischers, notwendig sein wird, näher zu untersuchen, was bei den Altmannschen Methoden echte Granula und was bloss Fällungs- oder Pseudogranula (Fischer) darstellt.

Die zweite Ansicht, die über die Granula ausgesprochen wurde, rührt von Arnold her. Die Zellsubstanz besteht nach diesem Autor aus, eventuell zu Fäden aneinandergereihten, Formelementen, den sogen. „Plasmosomen“¹⁾, welche ihrerseits Körner von verschiedenem Lichtbrechungsvermögen (Endosomatien, Somatien) einschliessen. Die Granula sollen nun umgewandelte Strukturelemente der Zellen, hervorgegangen aus einer Metamorphose der Plasmosomen sein; sie sind, nach Arnold, körnige Ausscheidungsprodukte der letzteren. Die gefärbten und daher allein sichtbaren sollen aber nur einen kleinen Teil der körnigen Strukturbestandteile der Zellen darstellen, und zwar diejenigen, welche bereits eine Umwandlung erfahren haben. Es sei aber auch möglich, dass Granula vorkommen, welche zu Strukturelementen nicht in Beziehung stehen. In Übereinstimmung mit diesen seinen theoretischen Anschauungen will nun Arnold direkt beobachtet haben, dass die Granula nicht nur unter sich, sondern auch mit zweifellosen Strukturelementen, z. B. Fäden in der Zellsubstanz, zusammenhängen, derart, dass sie in letztere eingebettet erscheinen; ferner, dass sich Übergänge von gefärbten zu ungefärbten, von grösseren zu kleinsten Gebilden, den Plasmosomen, vorfinden. Dies beweise, dass die Granula aus der Umwandlung von Plasmosomen hervorgehen.

¹⁾ Dieser Name wird allerdings von Ogata und Nicolaides-Melissinos in einem ganz anderen Sinne als von Arnold gebraucht.

Diesen thatsächlichen Angaben Arnolds muss ich, soweit es die allein entscheidenden vitalen Färbungen (und meine Untersuchungsobjekte, die sich wohl prinzipiell nicht von anderen unterscheiden werden) betrifft, entgegentreten. Niemals vermag man einen solchen Zusammenhang und eine solche Entstehungsweise der Granula nachzuweisen, sie sind vielmehr vollständig isolierte, vollkommen für sich abgeschlossene und keinerlei ersichtlich bedeutendere Veränderungen aufweisende Gebilde. Ich vermag also in den Granulis weder Umwandlungsprodukte irgend welcher „Plasmosomen“, noch auch diese selbst anzuerkennen. Ich stimme wohl gerne mit Arnold, der übrigens selbst seine Anschauungen einstweilen als hypothetische hinstellt, darin überein, dass alle über die Granula ermittelbaren Thatsachen „für unsere Erkenntnis der Struktur und Architektur der Zellen, sowie der biologischen Prozesse in ihnen als bedeutungsvoll anerkannt werden müssen“, glaube aber, dass wir heute zu den von Arnold gezogenen Folgerungen nicht berechtigt sind und noch weniger in die Überschätzung, die die Granula von Altmann erfahren haben, verfallen dürfen. Ich sehe in ihnen, ähnlich wie Flemming, zwar Gebilde von vitaler Bedeutung, aber keine Elementarorganismen, sondern Elementarorgane der Zelle, welch letztere uns als morphologische und physiologische¹⁾ Einheit zu gelten hat. Auch sind nicht alle Granula gleichwertige Elemente; wenn einzelne aktive Gebilde repräsentieren, stellen andere (vgl. S. 501) nicht selbstthätige Organe, sondern passive Einschlüsse der Bionten (etwa Alloplasten im Sinne Rouxs) dar, und die Sonderung dieser beiden Arten wird jedenfalls noch vieler Mühe bedürfen. —

¹⁾ Das Letztere allerdings mit einer gewissen Beschränkung. Denn die selbständige Existenzfähigkeit, die streng genommen, zu diesem Begriffe gehört, kommt der im Verbande mit anderen stehenden Metazoenzelle nicht zu. Vgl. hierüber Schencks Arbeit.

Die konstante Einlagerung dieser Elemente im Protoplasma muss bei dem Versuche, sich eine Vorstellung über die Architektur der Zelle zu bilden, wesentlich mit in Betracht kommen. Und das um so mehr, als gewiss noch nicht alle Granula durch unsere Versuche dargestellt werden konnten; sehr wahrscheinlich sind viele unsichtbar geblieben und es wird erst durch weitere Versuche, vielleicht, gelingen, alle in den Zellen enthaltenen Granula ersichtlich zu machen. Aber, nehmen wir an, es wären thatsächlich nur die hier dargestellten in den Zellen vorhanden, so tritt ihre morphologische Bedeutung auch da schon an einer bestimmten Zellart ganz besonders deutlich hervor: Der Zelleib jener vorne am Kopf und um die Nasenöffnung befindlichen Zellen ist so dicht von ihnen erfüllt, dass die Masse des zwischen den Granulis eventuell vorhandenen lebenden Plasmas dagegen ganz zurücktritt. Dem Körper dieser Zellart müssen wir einen vorwiegend granulären Bau zuschreiben, die eventuell in ihm noch vorhandenen fädigen oder netzigen Elemente können nur einen sehr geringen Bruchteil seiner (lebenden) Bestandteile bilden. Dieses Verhältnis ändert sich allerdings an den verschiedenen Zellarten mehr oder minder zu Ungunsten der Granula, aber auch in den granulaarmen bilden sie einen ganz beträchtlichen Teil der Protoplasma-masse. Graduell mag also der Gehalt der Zellen an ihnen schwanken, jedenfalls aber bildet das Granulum ein ständiges, in einigen Fällen das hervortretendste Bauelement in der Zellarchitektur.

Der Typus der letzteren wird bekanntlich verschieden aufgefasst. Bütschli schreibt dem Protoplasma eine Wabenstruktur zu. An den hier untersuchten Zellen ist von einer solchen weder an fixierten, noch an lebend untersuchten Zellen etwas wahrzunehmen¹⁾, sie ist hier sicher nicht vorhanden, und

¹⁾ Erlanger, ein Anhänger Bütschlis, hat allerdings von den Zellen des Kiemenepithels der Salamanderlarve behauptet, dass sie einen wabigen

liesse sich auch schwer mit der Bildung, insbesondere der Bismarckbraun-Krystallnadeln vereinbaren, deren dichtes, unregelmässiges Sparrwerk den Wabenbau zerstören müsste. Dass einzelnen Zellarten (anderer Objekte) ganz oder zum Teile eine Wabenstruktur zukommt, bezweifle ich übrigens nicht, vermag sie aber nicht als die typische und einzige Protoplasmastruktur anzuerkennen. Der Umstand, den Rhumbler zu ihren Gunsten anführt, dass sie nämlich die einzige sei, die uns, bisher wenigstens, zahlreiche Vorgänge im Zellleben in einfacher Weise physikalisch erklären und verstehen lasse, kann über die Tatsache nicht hinweghelfen, dass die Wabenstruktur gewiss keine allgemeine ist; und des weiteren sind solche physikalische Erklärungsversuche mit Zugrundelegung der anderen Protoplasmatheorien noch nicht in so ausgedehnter Weise versucht worden (Heidenhain, Fick), wie von Rhumbler mit der Wabentheorie.

Die zweite Theorie der Plasmastruktur, der gegenüber hier noch Stellung genommen werden muss, ist die Fadengerüstlehre, deren Hauptvertreter bekanntlich Flemming ist. Ihm gilt als wichtigstes Bauelement der Zelle der plasmatische Faden, mit dessen Hülfe auch gerüstartige Strukturen sich bilden können; durch feine Vakuolisierung des Zelleibes kann übrigens neben diesem Fadengerüste noch eine Wabung vorhanden sein. Das Grundelement der Zellarchitektur ist aber der plasmatische Faden¹⁾.

Bau besitzen. Dass er jedoch in seinen Angaben nicht ganz klar ist und dass aus ihnen auch gefolgert werden könne, jenen Zellen komme ein netziger Bau im Sinne Flemmings zu, hat der Letztere schon, Erlanger gegenüber, hervorgehoben und ganz richtig betont, dass diese Zellen bei lebenden (nicht vital gefärbten) Larven überhaupt keine Struktur, höchstens (bei älteren Tieren) ein blass wolkiges Aussehen zeigen.

1) Doch giebt Flemming auch zu (Ergebnisse V, S. 262), dass es Zellen giebt, die keine Fäden besitzen, sondern nur eine von Vakuolen durchsetzte Grundmasse. Dann sei natürlich diese das, was lebt. Dort aber, wo sich Fäden finden, machen sie auch mit das Wesen der Zellstruktur aus.

Diese Lehre stützt sich zwar auch vorwiegend auf Beobachtungen an fixierten Präparaten, kann aber darauf hinweisen, dass fädige Elemente auch an lebenden Zellen, wie Amöben, Leukocyten, Knorpel-, Säugetierzellen u. a. m. (Klemensiewicz, Flemming u. A.) sicher konstatiert werden konnten. Allein auch diese Fäden lassen sowohl an der lebenden, wie an der fixierten (Metzner u. A.) Zelle eine Zusammensetzung aus Granulis erkennen¹⁾. Ob das Hauptgewicht auf sie oder die sie verbindende Zwischensubstanz (Flemming) zu legen ist, ist schwer zu entscheiden. Jedenfalls tritt uns im Zellleib überall das Granulum (oder „Mikrosom“) als ein konstantes Strukturelement entgegen, und hier wenigstens wäre daher die Altmannsche Unterscheidung einer Granular- und Intergranularsubstanz — aber nur im morphologischen Sinne — eine wohl berechtigte. Auch Held schliesst aus seinen Untersuchungen (an Drüsen), dass, da die Granula überall anzutreffen seien, sie, wenn auch nicht im Sinne Altmanns, doch die Bedeutung eines allgemeinen Strukturelementes besitzen. „Vom morphologischen Standpunkt folgt daraus, dass an Stelle der Filar- eine Granulattheorie zu treten hat, wenn auch die Körnchen nicht als Bioblasten im Sinne Altmanns anzusehen sind.“

Soweit mich die Ergebnisse meiner Untersuchungen hierzu berechtigen, sehe ich also in dem plasmatischen Granulum ein Strukturelement ersten Grades. Es erfüllt in verschieden grosser Zahl — ich verweise hier einerseits auf jene oft erwähnten, besonders granulareichen Epithelzellen vorne am Kopfe und

1) Die Fäden im Echinodermenei hält Wilson in seiner jüngsten Arbeit für echte Fasern, giebt aber in Übereinstimmung mit Reinke zu, dass die körnige „Pseudowabenstruktur“ das Material ist, aus dessen Elementen sich die Strahlen bilden.

2) Vom Zellkerne, der sich, wie erwähnt, vital nicht färben lässt, sehe ich hier vollständig ab.

andererseits auf die granulaarmen, pigmentreichen Zellen — den an der lebenden Zelle im übrigen zumeist homogen erscheinenden Leib. In dieser homogen erscheinenden Grundmasse finden sich, wie die Bilder fixierter Präparate lehren, wiederum von (feineren) Granulis gebildete, plasmatische Fäden vor, und können vielleicht auch zusammen ein Netzwerk bilden. Doch spricht die beobachtete, für das Leben der Zellen unschädliche, reiche Durchsetzung derselben mit Krystallnadeln (besonders beim Bismarckbraun) sehr dagegen, dass dieses Netzwerk (hier wenigstens) ein dichtes ist¹⁾.

Diese hier gegebene Darstellung von der Architektur des Zellleibs steht in ziemlicher Übereinstimmung mit Anschauungen anderer Autoren. Waldeyer hat, hauptsächlich den Angaben Reinkes folgend, dem Zelleib zunächst eine Gliederung in eine Rinden- und eine (im Prinzip ähnlich gebaute) Markschiebt zugeschrieben; sie bestehen beide aus einer Grundsubstanz ohne ersichtliche Struktur, die Waldeyer Cytolinin benennt (= Flemmings Interfilarmasse und dem Hyaloplasma Leydigs und Strassburgers); diese Grundsubstanz ist „pseudowabig“ gebaut, und zwar dadurch, dass Zellsafttröpfchen und gröbere Granula in sie eingelagert sind, welche letztere Produkte derselben darstellen und sich zu Fetttröpfchen, Dotterkörnchen u. a. m. weiter differenzieren; dazwischen liegen feinere Granula, die sich zu Fäden aneinanderreihen können. — Diese Ansicht Waldeyer-Reinkes fusst vorwiegend auf den Untersuchungen fixierter Präparate und es hat ihr gegenüber Flemming (Ergebnisse V, S. 257) mit Recht darauf hingewiesen, „ob die Körner, die hierbei offenbar ins Auge gefasst sein müssen, in der That natürlich vorhanden sind, ob man sie nicht vielmehr

1) Ebenso wie gegen die Annahme, dass ein enges Maschenwerk vorhanden sei, die freie Bewegung der von mir beobachteten Neutralrotkörnchen (im Echinodermenei) und diejenigen der Pigmentkörnchen spricht (Rhumbler).

als Reagentienprodukte, als Niederschläge in der Grundsubstanz anzusehen hat“. Durch die wichtigen Untersuchungen Fischers ist eine Prüfung dieses Umstandes unbedingt notwendig geworden¹⁾. Nach dem früher Gesagten ist es mir allerdings wahrscheinlich, dass eine solche sorgfältige und kritische Prüfung nicht in völligem Gegensatze zu dem an der lebenden Zelle Beobachtbaren stehen dürfte und ich kann jedenfalls nach den Ergebnissen der vitalen Färbungen der Reinke-Waldey-erschen Ansicht hierin beitreten, dass sich hiebei der Zelleib als aus einer homogen erscheinenden Grundsubstanz mit zahlreichen eingelagerten (Flüssigkeitstropfen und) Granulis bestehend erweist. Die letzteren allerdings, die übrigens, weil durch eine andere Methode dargestellt, denen Waldeyers nicht ohne Weiteres gleichzusetzen sind, fasse ich anders auf als Waldeyer. Ich habe, trotz so langer Beobachtungsdauer der Tiere, eine Differenzierung der Granula niemals beobachten können und habe sie daher aus diesem und noch anderen, früher erörterten Gründen nicht einfach als zur Differenzierung in tote Elemente bestimmte Produkte der Grundsubstanz, sondern als konstante, lebende, selbstthätige Gebilde, als Elementarorgane des Zelleibs bezeichnet. Neben ihnen kommen gewiss auch Granula vor, für welche die Waldeyersche Definition gültig ist.

Dass die Menge aller dieser Granula in verschiedenen Zellen auch eine verschiedene ist, habe ich an Beispielen zu zeigen gesucht. Es giebt Zellformen, bei welchen die Grundsubstanz ganz von ihnen durchsetzt ist, und andere, bei welchen sie nur wenige enthält. Aus diesem Grunde möchte ich den Satz Waldeyers, dass die Zellsubstanz einen „pseudowabigen Bau“

1) Diese an fixierten Präparaten erhaltenen Granula sind von einigen Autoren (so Reinke, Heidenhain, Schloter) auch in besondere Arten geteilt und dementsprechend auch verschieden benannt worden. Diese Unterscheidung bedarf naturgemäss noch dringender der entsprechenden Prüfung.

besitzt, mindestens nicht als einen allgemein gültigen ansehen. Denn zu der hierzu notwendigen gleichmässigen, dichten Erfüllung der Grundsubstanz ist die Zahl und Grösse der Granula in sehr vielen Zellarten wahrscheinlich doch eine zu geringe. Ich befinde mich hierin in Übereinstimmung mit Flemming, der seine Anschauung vom Aufbaue des Zelleibs wiederholt klar entwickelt hat. Auch er anerkennt eine (anscheinend) homogene Grundsubstanz (Interfilarmasse), die eventuell bei einzelnen Zellarten durch Einlagerung von Vakuolen einen Wabenbau aufweisen könne, und lässt ferner auch Körnchen in ihr vorhanden sein, aus deren Aufreihung, wie er angiebt, fädige Gebilde entstehen können. Doch legt Flemming, meiner Meinung nach, den Granulis nicht ganz die ihnen gebührende Bedeutung bei. Wenn, wie es der Fall ist, jede genaue Untersuchung der Struktur oder Entstehungsweise der Bauelemente der Zelle in letzter Linie zur Erkennung von Granulis führt¹⁾, so sind diese letzteren auch, vom morphologischen Standpunkte wenigstens, zu den einfachsten Strukturelementen des Plasmas zu rechnen. Wir haben dann zunächst zwei Arten derselben zu unterscheiden: Solche, die sich an der Bildung von Fäden beteiligen, und solche, die als selbständige Elemente frei in der Grundsubstanz liegen. Während ferner den Granulis ein allgemeines Vorkommen zukommt, giebt es, wie Flemming selbst zugesteht, Zellarten, bei welchen gar keine fädigen Gebilde nachzuweisen sind. Es sind übrigens auch jene Fadenarten, deren Vorhandensein in

1) Allerdings hat Michaelis durch vitale Färbung in Drüsenzellen Fädchen darstellen können, bei denen ihm eine Auflösung in Körnchen nicht gelang. Doch konnte er beobachten, dass Gebilde ganz gleicher Art (in anderen Zellen) bei gewissen Sekretionsstadien sich als aus Körnchen bestehend erwiesen, und es ist daher auch für die anderen Gebilde ein gleiches Verhalten zu erwarten.

den betreffenden Zellen zweifellos dasteht, von verschiedenen Autoren (so von Berthold, Frank Schwarz, Prenant, Sjöbring) nicht als permanente, sondern nur als temporär, in gewissen Phasen der Zellthätigkeit auftretende Organe erklärt worden. Wie immer man hierüber denken mag, die Bedingungen für die Entstehung dieser Gebilde müssen auch in jenen Phasen, wo wir sie nicht deutlich wahrnehmen können, in den Zellen vorhanden sein ¹⁾.

Ich habe in der vorangegangenen Darstellung den Nachweis zu führen gesucht, dass es mit Hülfe der vitalen Färbemethode möglich ist, im Zelleibe Granula ersichtlich zu machen, welche lebendige plasmatische Elemente repräsentieren. Die Bezeichnung dieser Methode als einer vitalen ist daher auch, in diesem Sinne, eine gerechtfertigte.

Es braucht aber wohl nicht erst besonders betont zu werden, dass diese Granula nicht die einzigen lebenden Elemente im Zelleib darstellen. Das Wesentliche in der Zelle ist, um einen Ausdruck Waldeyers zu gebrauchen, das Lebendige in ihr. Was aber dieses Lebendige ist, darüber ist bekanntlich viel gestritten worden. Leydig, und eine Anzahl ihm folgender Autoren (so Schäfer, Brass, Friedländer) haben die homogene Grundsubstanz, Leydigs Hyaloplasma (im Gegensatz zu seinem Spongioplasma), für das Lebendige in der Zelle erklärt, ein Satz, der lebhaften Widerspruch erfuhr. Die Frage steht wohl gegenwärtig so, dass wir, Flemming folgend, nicht allein dem Hyaloplasma, sondern auch den ihm eingelagerten typischen Strukturelementen, wie Fäden und Granula,

¹⁾ Es sei denn, dass man mit Graf den Satz, dass eine Funktion auch eine cellulare Struktur voraussetzt, für ein unbewiesenes Axiom hält.

überall dort, wo sie eben vorhanden sind, auch die „Lebendigkeit“ zu vindizieren haben. Die Granula stellen also nur einen, in verschiedenen Zellarten an Quantität variierenden, Teil des Lebendigen in der Zelle dar.

Wie die Leydigsche Unterscheidung eines Hyalo- und Spongionplasma neben ihrer morphologischen auch eine physiologische Bedeutung hat, so liegt auch der Strasburgerschen Unterscheidung eines Tropho- und eines Kinoplasma ein physiologisches Moment zugrunde. Welcher von diesen beiden Plasmaarten die hier dargestellten Granula zuzuteilen sind, ergibt sich, nach ihrer Form und Lagerung, von selbst: Sie stellen Teile des Strasburgerschen Trophoplasmas dar.

Rein physiologische Einteilungen der Bauelemente der Zelle können, ihrer Natur nach, keine absolut scharfen sein; denn Kinoplasma wird, bis zu einem gewissen Grade, auch als Trophoplasma wirksam sein, und umgekehrt. Die morphologische, in dieser Hinsicht nichts präjudizierende Bezeichnungsweise wird mit den Ausdrücken: Filar- und Interfilarmasse, Granulum — und (eventuell) Wabe — den Thatfachen in einfachster Weise gerecht. —

Die Meinungen über die Dignität der Granula haben die verschiedensten Wandlungen erfahren. Hatte sie Altmann als Elementarorganismen aufgefasst und in ihnen jene kleinsten Elementareinheiten sehen wollen, welche nach den Theorien von Darwin, Nägeli, Spencer, Wiesner, de Vries u. A. die Zelle zusammensetzen sollen, so war dies ebenso sehr eine Überschätzung, wie es anderseits als eine Unterschätzung zu bezeichnen ist, wenn man alle Granula schlechtweg als tote Inhaltseinschlüsse der Zelle, als passive Produkte ihres Stoffwechsels auffasst.

Wenn hier der Versuch gemacht wurde, die wahre Bedeutung dieser zweifellos wichtigen Zellbestandteile zu ermitteln,

so geschah es in dem Bewusstsein, dass die Giltigkeit der so gewonnenen Sätze, den Wertigkeitsgrenzen des untersuchten Materials und der angewandten Methode entsprechend, eine beschränkte ist, und eine allgemeine erst auf der Basis ausgedehnter, vergleichend-histologischer Untersuchungen werden kann. Diese werden sich aber, wie schon in der Einleitung betont wurde, nicht allein mit der Prüfung von, mit so verschiedenartigen Fällungsprodukten durchsetzten fixierten Präparaten begnügen dürfen, sondern müssen vor allem, wie es hier geschah, auch die lebende Zelle mit in ihr Bereich ziehen. —

Prag, im Juli 1900.

Berücksichtigte Litteratur.

1. Altmann, R., Die Elementarorganismen und ihre Beziehung zu den Zellen. 2. Aufl. Leipzig 1892.
2. — Die vitalen Leistungen des Organismus. Arch. f. Anatomie u. Physiol. Anatom. Abt. 1899.
3. Albrecht, E., Zur Struktur des Seeigeleies. Sitzungsber. der Gesellsch. f. Morphologie und Physiologie in München, 1898.
4. — Leben und lebende Substanz. Verhandlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher u. Ärzte auf d. 70. Versammlung in Düsseldorf, 1888.
5. — Über Protoplasmastrukturen. Sitzungsberichte d. Gesellsch. f. Morphol. u. Phys. in München, 1899.
6. — und Schmaus, H., Zur funktionellen Struktur der Leberzellen. Festschr. f. Kupffer, Jena, 1899.
7. Arnold, J.¹⁾ Über Struktur und Architektur der Zellen. Arch. f. mikroskop. Anatomie, Bd. 52, 1898.
8. — Kritische Bemerkungen über Flemmings Fadengerüstlehre. Anatom. Anzeiger, 15, 1899.
9. — Der Farbenwechsel der Zellgranula, insbesondere der acidophilen. Centralbl. f. allgem. Pathologie, Bd. 10. 1899.
10. — Über Granulafärbung lebender und überlebender Leukocyten. Virchows Archiv, Bd. 157, 1899.
11. — Weitere Beobachtungen über vitale Granulafärbung. Anatom. Anzeiger, Bd. 16, 1899.
12. — W. Flemming und die „Mitomlehre“. Anatom. Anzeiger, Bd. 16, 1899.
13. — Über vitale Granulafärbung in den Knorpelzellen, Muskelfasern und Ganglienzellen. Arch. f. mikroskop. Anatomie, Bd. 54, 1900.
14. — Über Granulafärbung lebender und überlebender Gewebe. Virchows Archiv, Bd. 159, 1900.
15. — Siderofere Zellen und die „Granulalehre“. Anatom. Anzeiger, Bd. 17, 1900.

1) Nur die neueren Arbeiten dieses Autors, in denen sich übrigens auch die Hinweise auf seine älteren Angaben finden, wurden hier citiert.

16. Arnstein, A., Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. *Anatom. Anzeiger*, Bd. 2, 1887.
17. Béchamp, A., *Les mikrocytas*. Paris, 1883 (citirt nach Altmann.)
18. Benda, C., Weitere Mittheilungen über Mitochondria. *Verhandl. d. Berliner physiol. Gesellsch., Arch. f. Physiologie*, 1899.
19. Bolles-Lee, A., et Henneguy, L. F., *Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique*, 2^{me} édit., Paris, 1896.
20. Brandt, K., Färbung lebender einzelliger Organismen. *Biolog. Centralblatt*, Bd. 1, 1881.
21. Brass, A., Die Organisation der tierischen Zelle. 1. 2. 1883 und 1884.
22. Berthold, P., *Studien über Protoplasmamechanik*. Leipzig, 1886.
23. Bremer, L., Über das Paranuklearkörperchen der gekerntn Erythrocyten nebst Bemerkungen über den Bau der Erythrocyten im allgemeinen. *Arch. f. mikrosk. Anatomie*, Bd. 45, 1895.
24. — Die Identität des Paranuklearkörperchens der gekerntn Erythrocyten mit dem Centrosoma. *Arch. f. mikrosk. Anatomie*, Bd. 46, 1895.
25. Brücke, E., *Die Elementarorganismen*. *Sitzungsber. d. mathem. naturw. Klasse d. Wiener Akademie*, Bd. 44, 1861.
26. Bütschli, O., *Über mikroskopische Schäume und das Protoplasma*. Leipzig, 1892.
27. — Untersuchungen über Strukturen, insbesondere über Strukturen nicht zelliger Erzeugnisse des Organismus und ihre Beziehung zu Strukturen, welche ausserhalb des Organismus entstehen. Leipzig, 1898.
28. Campbell, H. Douglas, *The staining of living Nuclei*. Untersuchung. aus dem botan. Institut. Tübingen, II, 3, 1888.
29. Certes, *Sur un procédé de coloration des infusoires et des éléments anatomiques pendant la vie*. *Zoolog. Anzeiger*, 4, 1881 und *Compt. rend. de la soc. de biologie*, 5, 1881.
30. Czermak, N., Ernährungswege einer epithelialen Zelle. *Anatom. Anzeiger*, Bd. 11, 1896.
31. Dehler, A., Beitrag zur Kenntniss des feineren Baues der roten Blutkörperchen beim Hühnerembryo. *Arch. f. mikroskop. Anatomie*, 46, 1895.
32. Demoor, J., Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule. Indépendance fonctionnelle du protoplasma et du noyau. *Archives de biologie*, t. 13, 1894.
33. Dohrn, A., *Studien zur Urgeschichte des Wirbeltierkörpers*. IV. Mittlg. d. zoolog. Station Neapel, Bd. 5, 1884.
34. Driesch, H., *Entwickelungsmechanische Studien*. II. *Zeitschr. f. wissenschaft. Zoologie*, Bd. 53, 1892.
35. Ehrlich, P., *Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes*. Berlin 1891.
36. — Über Neutralrot. *Allgem. mediz. Centralzeitung*. 1894.
37. — Zur biologischen Verwertung des Methylenblaus. *Biolog. Centralblatt*, Bd. 7. 1896.
38. — und Lazarus, A., *Normale und pathologische Histologie des Blutes*. Aus Nothnagel, *Spezielle Pathol. und Therapie*, VIII, 1., 1898.

39. v. Erlanger, R., Über den feineren Bau der Epithelzellen der Kiemenblätter der Salamanderlarve und ihre Teilung. *Zoolog. Anzeiger*, Bd. 19, 1896.
40. — Beiträge zur Kenntnis der Struktur des Protoplasma, der karyokinetischen Spindel und des Centrosoma. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, Bd. 49, 1897.
41. Estor, A., De la constitution élémentaire des tissus. Montpellier 1892. (Cit. n. Altmann.)
42. Fick, R., Bemerkungen zu M. Heidenhains Spannungsgesetz der centrierten Systeme. *Arch. f. Anat. u. Physiol.*, Anat. Abt. 1897.
43. Fischel, A., Über Beeinflussung und Entwicklung des Pigmentes. *Arch. f. mikrosk. Anatomie*, Bd. 47, 1896.
44. — Über Beeinflussung der Pigmentierung durch Wärme und Licht. Sitzungsber. d. naturw.-mediz. Vereins „Lotos“, 1896.
45. — Über vitale Färbung von Echinodermeneiern während ihrer Entwicklung. *Anatom. Hefte*, Heft 37, 1899.
46. — Zur Histologie der Urodelen-Cornea und des Flimmerepithels. *Anatom. Hefte*, Heft 49, 1900.
47. Fischer, A., Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. *Anat. Anz.*, Bd. 9, 1894.
48. — Neue Beiträge zur Kritik der Fixierungsmethoden. *Anatom. Anzeiger*. Bd. 10, 1895.
49. — Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, 1899.
50. Flemming, W., Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig, 1882.
51. — Über den Einfluss des Lichtes auf die Pigmentierung der Salamanderlarve. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, Bd. 48, 1877.
52. — Weitere Bemerkungen über den Einfluss von Licht und Temperatur auf die Färbung der Salamanderlarve. Ebendasselbst.
53. — Über Zellstrukturen. Verhandlg. d. anatom. Gesellsch. auf d. 13. Versammlung in Tübing., 1899.
54. — Morphologie der Zelle¹⁾. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte, Bd. I—VII, 1891—1897.
55. Friedländer, E., Altes und Neues zur Histologie des Bauchstrangs der Regenwürmer. *Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, 1894.
56. Galeotti, G., Ricerche sulla colorabilità delle cellule vivanti. *Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie*, Bd. 11, 1804.
57. — Über die Granulationen in den Zellen. *Internat. Monatschr. f. Anat. u. Histol.*, Bd. 12, 1895.
58. Georgievicz, G. v., Lehrbuch der Farbenchemie. I. Leipzig, 1895.
59. Godlewski, E., Über die Kernvermehrung in den quergestreiften Muskelfasern der Wirbeltiere. *Vorl. Mittlg. Extrait du bullet. de l'Académie des Sc. de Cracovie*, Avril, 1900.
60. Graf, A., The individuality of the cell. *State Hospitals Bullet.*, Utica April 1897. (Cit. nach d. Jahresbericht.)

¹⁾ In diesen ausgezeichneten Referaten hat Flemming wiederholt seinen Standpunkt hinsichtlich der Auffassung des Zellenbaues genau präzisiert, so dass ich von der Citierung anderer seiner Arbeiten hier absehen kann.

61. Heidenhain, M., Über Kern und Protoplasma. Festschr. f. Koelliker, Leipzig, 1892.
62. — Neue Untersuchungen über die Centralkörper. Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 43, 1894.
63. — Cytomechanische Studien. Arch. f. Entwicklungsmechanik, I, 1895.
64. — Neue Erläuterungen zum Spannungsgesetz der centrierten Systeme. Morpholog. Arbeiten, Bd. 7, 1897.
65. — Einiges über die Protoplasmaströmungen. Sitzgb. d. physik.-med. Ges. in Würzburg, 1898.
66. Held, H., Beobachtungen am tierischen Protoplasma. I. Drüsengranula und Drüsenprotoplasma. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt. 1899.
67. Herbst, C., Experiment. Untersuchung über d. Einfluss d. veränderten chem. Zusammensetzung u. s. w. Mittlg. d. zoolog. Station Neapel, I, 1895.
68. Hertwig, O., Die Zelle und die Gewebe. I. Jena 1892.
69. Horsley, Blutbefunde bei der intravitalen Methylenblaumethode. Biolog. Abt. d. ärztl. Ver. Hamburg, München. med. Wochenschr., 1897.
70. Klemensiewicz, R., Neue Untersuchungen über den Bau und die Thätigkeit der Eiterzellen. Mitteilg. d. Ver. d. Ärzte Steiermarks, Graz, 1898.
71. Koelliker, A., Die Energiden von v. Sachs im Lichte der Gewebelehre der Tiere. Würzburger Verhandl., N. F. 31, 1897.
72. Krause, R., Die Speicheldrüsen des Igels. Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 45, 1895.
73. Krehl, L., Ein Beitrag zur Fettresorption. Arch. f. Anat. u. Phys. 1890.
74. Langerhans, P., Über die Haut der Larve von *Salamandra macul.* Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 9, 1873.
75. Leydig, F., Anatomisch-histologische Untersuchungen über Fische und Reptilien. Berlin, 1853.
76. — Über die allgemeine Bedeckung der Amphibien. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 12, 1876.
77. — Untersuchungen zur Anatomie und Histologie der Tiere. Bonn, 1883.
78. — Zelle und Gewebe. Neue Beiträge zur Histologie des Tierkörpers. Bonn, 1885.
79. — Der reizleitende Teil des Nervengewebes. Arch. f. Anat. und Phys., Anat. Abt., 1899.
80. Loisel, G., La coloration des tissus chez les animaux vivants. Compt. rend. soc. de biologie, 1897.
81. — Contribution à l'histo-physiologie des Éponges. C. r. soc. biol. Paris 1898 und Journ. de l'Anat. et Phys. Vol. 59, 1898.
82. Maggi, L., I plastiduli nei ciliati ed i plastiduli liberalmente viventi. Atti della soc. Ital. di sc. nat. Milano 1878 (cit. nach Zoja).
83. Mayer, S., Bemerkungen über die Wirkungen der Farbstoffe Violett B und Neutralrot. Sitzungsab. d. naturw.-med. Vereins „Lotos“ 1896.
84. Metzner, R., Beiträge zur Granulalehre. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt., 1894.

85. Michaelis, L., Die vitale Färbung, eine Darstellungsmethode der Zellgranula. Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. 54, 1900.
86. Mitrophanow, P. J., Über Zellgranulationen. Sitzungsber. d. biolog. Sektion d. Warchauer naturforsch. Gesellsch. Biol. Centralbl. Bd. 9, 1890.
87. Müller, E., Drüsenstudien. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt., 1896.
88. Münden, M., (1., 2. und 3.) Beitrag zur Granulafrage. Arch. f. Anat. und Phys., Phys. Abt., 1896, 1897 (S. 22, 269 und 390).
89. Naegeli, C., Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre. München u. Leipzig, 1884.
90. Nicolaides und Melissinos, Untersuchungen über einige intra- und extranukleare Gebilde im Pankreas u. s. w. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. 1890.
91. Ogata, M., Die Veränderungen der Pankreaszelle bei der Sekretion. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. 1883.
92. Pfeffer, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus d. botan. Institut. in Tübingen, II, 2, 1886.
93. Pfitzner, W., Die Leydig'schen Schleimzellen in der Epidermis der Larven von Salamandra macul. Inaug.-Dissert. Kiel, 1879.
94. — Die Epidermis der Amphibien. Morphol. Jahrb., Bd. 6, 1880.
95. Prenant, A., Sur le protoplasma supérieur. Étude critique. Journ. de l'anat. et de la phys., 1888, 1899.
96. Pro wazek, S., Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 83, 1897.
97. — Protozoenstudien Arbeit d. zool. Instit. Wien, Bd. 11, 1899.
98. Przesmycki, A. M., Über die Zellkörnchen bei den Protozoen. Biolog. Centralbl., Bd. 14, 1894.
99. — Über die intravitale Färbung des Kernes und des Protoplasmas. Biol. Centralbl., Bd. 17, 1897.
100. — Über die intravitale Färbung des Zellkernes. Sitzgber. d. Ges. f. Morphol. u. Phys. München, 1899.
101. Rabl, C., Über den Bau und die Entwicklung der Linse. Schlusskapitel. Zeitschrift. f. wissensch. Zool., Bd. 67, 1900.
102. — Homologie und Eigenart. Verhandl. d. deutsch. patholog. Gesellsch. a. d. Vers. in München, 1890.
103. Ranvier, L., Leçons d'anatomie générale. Cornée. Paris, 1881 (S. 310).
104. Renaut, J., Traité d'histologie pratique. T. II, fasc. 1. Paris, 1897 (S. 206).
105. Reinke, F., Über einige Versuche mit Lysol an frischen Geweben zur Darstellung histologischer Feinheiten. Anat. Anzeiger, 8. 1893.
106. — Zellstudien. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 43 u. 44, 1894 u. 1895.
107. — Untersuchungen über Befruchtung und Furchung des Eies der Echinodermen. Sitzgber. d. k. Ak. d. Wissensch., Berlin, 1895.
108. Rhumbler, L., Versuch einer mechanischen Erklärung der indirekten Zell- und Kernteilung. Arch. f. Entwickelgmeh., Bd. 3, 1896.
109. — Physikalische Analyse der Lebenserscheinungen der Zelle. I. Arch. f. Entwickelgmeh., Bd. 7, 1898. II. und III. Arch. f. Entwickelgmeh., Bd. 9, 1899.

110. Rhumbler, L., Allgemeine Zellmechanik. Ergebnisse d. Anatomie u. Entwicklungsgesch., Bd. 8, 1898.
 111. Roux, W., Entwicklungsmechanik. Ergebnisse d. Anatomie, Bd. 2, 1892 (vgl. auch: Gesammelte Abhandlungen, Leipzig, 1895).
 112. Rudneff, M., Über die epidermoidalen Schichten der Froschhaut. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 1, 1865.
 113. Schäfer, On the Structure of amoeboid protoplasma etc. Proceed. of the roy soc., Vol. 49, 1891.
 114. Schenck, F., Physiologische Charakteristik der Zelle. Würzburg, 1899.
 115. Schloter, G., Zur Morphologie der Zelle. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 44, 1895.
 116. Schultze, F. E., Epithel- und Drüsenzellen. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 3, 1867.
 117. Schultze, O., Die vitale Methylenblaureaktion der Zellgranula. Anat. Anz., Bd. 2., 1887.
 118. Solger, B., Über den feineren Bau der Glandula submaxillaris des Menschen. Festschr. f. C. Gegenbaur, Bd. II, 1896.
 119. Schwarz, Frank, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasma. Breslau, 1887.
 120. Sjöbring, Nils, Über das Formol als Fixierungsflüssigkeit. Anat. Anz., Bd. 17, 1900.
 121. Strasburger, E., Histologische Beiträge, H. 2., Jena, 1892.
 122. Teichmann, Mikroskopische Beiträge zur Lehre von der Fettresorption. Jn.-Diss., Breslau, 1891 (cit. n. d. Jahresber.).
 123. Waldeyer, W., Die neueren Ansichten über den Bau und das Wesen der Zelle. Vortrag, gehalten im Verein f. innere Medizin, Berlin. Deutsch. med. Wochenschr., 1895.
 124. Wilson, E. B., On protoplasmatic structure in the eggs of echinoderms and some other animals. Journ. of Morphol., Suppl. vol. 15, 1899.
 125. Wiesner, J., Die Elementarstruktur und das Wachstum der lebenden Substanz. Wien, 1892.
 126. Zoja, L. und R., Über die fuchsinophilen Plastidulen (Altmanns Bio-blasten). Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt., 1891.
-

Tafelerklärung.

Die Figuren 1—10 sind von H. K. Jedlička, die übrigen teils von Demselben, teils von mir (mit Hülfe eines Zeichenapparates) gezeichnet. — Wo nicht das Gegenteil bemerkt ist, stammt das der betreffenden Figur zu Grunde liegende Objekt von der Larve von *Salamandra maculata*.

Gemeinsame Bezeichnungen:

- CP Pigmentzelle der Cutis.
- FZ Flimmerzelle.
- HS Hautsinnesorgan.
- LZ Leydigsche Zelle.
- P Pigmentzelle (intraepitheliale).
- SZ Schaltzelle.
- ZZ Zwischenzelle.

Tafel XXXVIII/XXXIX.

Figur 1. Normale, durch Licht- und Wärmeeinfluss gebleichte Salamanderlarve. (Als Vergleichsobjekt für die folgenden 9 Figuren.)

Figur 2. Mit Malachitgrün gefärbte Larve.

Figur 3. Mit Chrysoidin gefärbte Larve.

Figur 4. Mit Alizarin gefärbte Larve. Die knöchernen Anteile des Fronto-Parietale, des Pterygoids und der Extremitätenknochen sind durch die Haut des lebenden Tieres sichtbar.

Figur 5. Mit Bismarckbraun gefärbte Larve.

Figur 6. Mit Methylenblau rectif. gefärbte Larve.

Figur 7. Mit Neutralrot gefärbte Larve.

Figur 8. Dieselbe Larve nach mehrmonatlichem Aufenthalte in ungefärbtem Wasser.

Figur 9. Mit Nilblausulfat gefärbte Larve.

Figur 10. Mit Nilblaulorhydrat gefärbte Larve.

Figur 11. Bild der tiefen Lage des Hautepithels von einer mit Methylviolett gefärbten Salamanderlarve. Die Leydigischen Zellen (LZ) ungefärbt, die übrigen Epithelzellen, sowie die Hautsinnesorgane (HS) diffus tingiert. (Betreffs der Darstellung der Leydigischen Zellen vgl. die Anmerkung auf Seite 430.) Vergröss. ca. 300.

Figur 12. Dieselbe Epithelschichte, von einer mit Auramin gefärbten Larve. Nur die Leydigischen Zellen, sowie die der Hautsinnesorgane werden durch diesen Stoff gefärbt. Vergröss. ca. 300.

Figur 13. Oberflächliche, von Flimmerzellen durchsetzte Epithellage. Von einer mit Alizarin gefärbten Larve. FZ Flimmerzellen, E gewöhnliche Epithelzellen. Farbige Körnchen in den Intercellularlücken. Vergröss. ca. 300.

Figur 14. Hautpartie mit Hautsinnesorgan von einer mit Dahlia gefärbten Larve. Metachromasie des Farbstoffes in den Zellen des Hautsinnesorgans. Vergröss. ca. 220.

Figur 15. Oberflächliche Epithellage der Haut einer mit Methylenblau rectif. gefärbten Larve. Pigmentkörnchen grün; in der Mitte eine durch ihre Form, Pigmentlosigkeit und ihre blauen Granula ausgezeichnete Schaltzelle. Vergröss. ca. 300.

Figur 16. Von demselben Objekte; verzweigte, intraepitheliale Pigmentzellen mit grün gefärbten Körnchen (P); Schaltzellen (SZ). Vergröss. ca. 250.

Figur 17. Hautpartie vom Mundboden; zwischen den pigmentfreien Zellen, deren Granula noch nicht gefärbt sind, einzelne gut gefärbte Schaltzellen. Vergröss. ca. 240.

Figur 18. Hautpartie vom Schwanz einer Larve von *Siredon pisciformis*. Keine Granula in den Epithelzellen, Färbung derselben in der hier sichtbaren Schaltzelle. Vergröss. ca. 300.

Figur 19. Tiefe Schicht des Hautepithels einer mit Methylenblau rect. gefärbten Salamanderlarve. Blaue Granula in den zwischen den (ungefärbten) Leydigischen gelegenen Zellen (ZZ); kontrahierte intraepitheliale Pigmentzellen (P); grüne Körnchen an der freien Seite der Zellen der Hautsinnesorgane. Vergröss. ca. 300.

Figur 20. Aus der Haut desselben Objektes; grün gefärbte Pigmentzelle der Cutis (CP); zwei Leydigische Zellen mit einzelnen, metachromatisch gefärbten Granulis; in der Mitte ein Hautsinnesorgan mit grünen Körnchen an den freien Zellseiten. Vergröss. ca. 300.

Figur 21. Epithelpartie vom Schwanz einer mit Methylenblau gefärbten Larve von *Rana temporaria*. Grüne Färbung der Pigmentkörnchen, in einzelnen Zellen diffus blau gefärbte Stellen; Dotterplättchen farblos geblieben. Vergröss. ca. 300.

Figur 22. Subepitheliale Pigmentzelle von einem Kiemenfaden einer mit Methylenblau gefärbten Larve von *Siredon pisciformis*. Blaue Granula, grüne Pigmentkörnchen. Vergröss. ca. 220.

Figur 23. Je eine der beiden Arten der Cutis-Pigmentzellen, von dem gleichen Objekte. Pigmentkörnchen der einen grün; die andere (gelbe) Zelle vollkommen unverändert. Vergröss. ca. 220.

Tafel XL/XLI.

Figur 24. Pigmentfreie Hautzelle von einer mit Bismarckbraun gefärbten Salamanderlarve. Braungelbe Granula in den Zellen. Vergröss. ca. 270.

Figur 25. Von demselben Objekte; die Granula in den Epithelzellen noch nicht, wohl aber in der Schaltzelle gefärbt. Vergröss. ca. 300.

Figur 26. Corneaepithel derselben Larve. In der oberen Hälfte der Figur das Bild der oberflächlichen Epithellage, in der unteren das der tieferen Schichte. Verschiedene Lagerung der Granula in den beiden Zonen; Krystallnadeln in und zwischen den Zellen. Vergröss. ca. 280.

Figur 27. Von demselben Objekte; eine Partie des Hautepithels mit einem Hautsinnesorgan. Granula und Krystallnadeln in den Zellen. Grösse und zum Teile auch Stellung der letzteren mit den längsten Zelldurchmessern übereinstimmend. Vergröss. ca. 300.

Figur 28. Dasselbe Tier; Reaktion der Leydig'schen Zellen unmittelbar nach der Färbung. Vergröss. ca. 350.

Figur 29. Färbung der tieferen Epithelschichte nach längerer Einwirkungsdauer des Bismarckbraun. Granula in den Leydig'schen und Zwischenzellen; braune Körnchen in den Zellen des Hautsinnesorgans; zerstreut verteilte Krystallnadeln. Vergröss. ca. 300.

Figur 30. Pigmentfreie Epithelstelle vom Mundboden der Salamanderlarve. Granula in den Epithelzellen noch nicht gefärbt; zahlreiche Krystallnadeln in den Leydig'schen und namentlich in den Schaltzellen. Vergröss. ca. 300.

Figur 31. Stück eines Knorpels von einer mit Bismarckbraun gefärbten Siredon-Larve. Granula in den Knorpelzellen; an zwei Stellen amorphe, stark tingierte Massen. Vergröss. ca. 300.

Figur 32. Kiemenfaden von dem gleichen Objekte. Gelbe und schwarze Pigmentzellen; bei \times stark gefärbte Massen, wahrscheinlich zersetztem Blute entstammend. Vergröss. ca. 220.

Figur 33. Mit roten Blutkörperchen gefülltes Blutgefäss, von dem vorigen Objekte. In den Endothelzellen (E) der Gefässwand, sowie in den Blutkörperchen (Bl) kleine Granulagruppen. Vergröss. ca. 310.

Figur 34. Abschnitt aus dem Hautepithel des Schwanzes einer mit Bismarckbraun gefärbten Larve von *Rana temporaria*. Färbung einzelner Granula. Wechsel zwischen wenig und stark pigmentierten, flimmernden Zellen. Vergröss. ca. 110.

Figur 35. Von einer mit Neutralrot gefärbten Salamanderlarve. Abschnitt einer vor und unter dem Auge gelegenen Hautstelle. Zwei Typen der Granulierung sichtbar. Vergröss. ca. 400.

Figur 36. Von dem gleichen Objekte. Partie aus der um die Nasenöffnung befindlichen Flimmerepithelzone. FZ Flimmerzellen, mit spärlichen, die übrigen Zellen mit ausserordentlich vielen Granulis. Vergröss. ca. 300.

Figur 37. Das gleiche Objekt. Übergang der seitlichen in die ventrale pigmentfreie Kopfhaut. Abnahme der Granulierung in ventraler Richtung. Vergröss. ca. 300.

Figur 38. Dieselbe Larve. Zellen der oberflächlichen Epithellage der Cornea. In und zwischen ihnen Sekretropfen (STr). Vergröss. ca. 400.

Figur 39. Zellen von der ventralen Bauchwand einer jungen, mit Neutralrot gefärbten Salamanderlarve. Eigenartige Granulierung, reiche Durchsetzung mit Dotterplättchen, Unsichtbarkeit der Zellgrenzen. Vergröss. ca. 300.

Figur 40. Pigmentierte Hautstelle, von dem vorigen Objekt. In der Mitte eine Schaltzelle. Vergröss. ca. 300.

Figur 41. Ergänzungsbild zu Figur 38; Einstellung auf die tiefere Epithellage der Cornea. Vergröss. ca. 400.

Figuren 42 und 43. Von zwei verschiedenen Larven; pigmentierte Hautstellen mit abnorm kleinen und abnorm stark pigmentierten Zellgruppen. Vgl. Text S. 457 Vergröss. ca. 300.

Figur 44. Bild der tiefen Lage des Hautepithels nach mehrmonatlichem Aufenthalte der Larve in ungefärbtem Wasser. Granula in den zwischen den (ungefärbten) Leydig'schen befindlichen Zellen (ZZ), sowie in denen der Hautsinnesorgane. Vergröss. ca. 220.

Figur 45. Dieselbe Region, nach frischer Färbung der Larve und bei stärkerer Vergrößerung. Färbung der Mucingranula der Leydig'schen und Granulafärbung in den Zwischenzellen. Vergröss. ca. 450.

Tafel XLII/XLIII.

Figur 46. Von einer mit Neutralrot gefärbten Salamanderlarve. Partie aus der um die Nasenöffnung (N) befindlichen Epithelzone. Die hellen Felder entsprechen Flimmerzellen, die zwischen ihnen gelegenen, nicht flimmernden Epithelzellen erscheinen infolge ihres reichen Gehaltes an gefärbten Granulis lebhaft rot gefärbt (vergl. Figur 36). Vergröss. ca. 100.

Figur 47. Abschnitt aus dem Hautepithel einer mit Neutralrot gefärbten Larve von *Siredon pisciformis*. Vergröss. ca. 150.

Figur 48. Hautepithelzellen einer Neutralrot-Larve von *Rana temporaria*. (Vgl. Figuren 21 und 34.) Vergröss. ca. 400.

Figur 49. Von einer mit Neutralrot gefärbten *Siredon*larve; Region der Schwanzflosse. Das Epithel ist nicht gezeichnet. B Bindegewebszellen; P schwarze und gP gelbe subepitheliale Pigmentzellen; S Saum des Schwanzes. Vergröss. ca. 100.

Figur 50. Von demselben Objekt; Zellen der Cornea, mit peripherischen Granulis. Vergröss. ca. 320.

Figur 51. Eine Stelle des Epithels in Figur 47 bei stärkerer Vergrößerung (330). Schwarze und gelbe Pigmentzellen unter dem Epithel durchschimmernd; Granula, Dotterplättchen und Pigmentkörnchen in den Epithelzellen. Zellgrenzen nicht wahrnehmbar.

Figur 52. Drei Bindegewebszellen aus Figur 49 bei stärkerer Vergrößerung (300). Vgl. Text S. 465.

Figur 53. Abschnitt des Epithels der Kloakenschleimhaut von einem erwachsenen Salamander. Zwischen den Epithelzellen besondere, stark granuliert, den Rudneffschen ähnliche Zellen (RZ). Vergröss. ca. 400. Vergl. Text S. 468.

Figur 54. Muskelfasern einer Neutralrot-Larve von *Siredon piscif.* Vergröss. ca. 300.

Figur 55. Abschnitt eines Kiemenfadens von demselben Objekte. Durch die Epithelzellen, deren Grenzen markiert sind, schimmern zahlreiche der stark tingierten amorphen Massen hindurch. Vergröss. ca. 300.

Figur 56. Von einer mit Neutralviolett gefärbten Salamanderlarve. Granula in den Epithelzellen, Färbung derselben in den Leydigischen und Schaltzellen. In der Tiefe (an zwei Stellen) blau gefärbte Zellen. Vergröss. ca. 400.

Figur 57. Von einer mit Neutralrot und Methylenblau gefärbten Salamanderlarve. Von einer vor und unter dem Auge gelegenen Hautstelle. Zwischen den fein granulierten oberflächlichen Epithelzellen treten intra- und subepitheliale Pigmentzellen (P und CP), Hautsinnesorgane und Leydigische Zellen hervor. Nur die Granula der Schaltzellen (SZ) haben das Methylenblau behalten. Vergröss. ca. 100.

Figur 58. Von demselben Objekte. Blaue und rote Granula in den oberflächlichen Epithelzellen. Überwiegen der ersteren in den Schaltzellen. Vergröss. ca. 450.

Figur 59. In einem Gemisch von Neutralrot und Bismarckbraun gefärbte Larve; Hautstelle um die Nasenöffnung; pigmentarme (Flimmer-) und pigmentreiche Zellen mit gelbrötlich gefärbten Granulis. Vergröss. ca. 450.

Figur 60. Oberflächliche Hornhautepithelzellen von dem Objekte der Fig. 57. Vergröss. ca. 400.

Figur 61. Pigmentfreie Hautstelle (Mundboden) von einer mit Nilblauschlorhydrat gefärbten Larve. Blaue Granula in den Epithel- und Schaltzellen, violette Ringe in den Leydigischen Zellen. Vergröss. ca. 300.

Figur 62. Von derselben Larve. Ein Teil der Flimmerepithelzone um die Nasenöffnung; violette Krystallnadeln in den nicht flimmernden, blaue Granula und grünliche Pigmentkörnchen in allen Zellen. Vergröss. ca. 350.

Figur 63. Von derselben Larve. Pigmentierte Hautstelle. Krystallnadeln, blaue Granula und grüne Pigmentkörnchen in den Epithel-, lediglich blaue Granula in den Schaltzellen. Vergröss. ca. 300.

Figur 64. Klamatocyt; von einer mit Nilblausulfat gefärbten Salamanderlarve. Hellblaue Färbung der Granula. Vergröss. ca. 400.

Figur 65. Hautstelle von derselben Larve. Krystallnadeln und blaue Granula in den Epithel- und Schaltzellen; metachromatische Färbung der Mucingranula der Leydigischen Zellen; grüne und blaue Granula in den Zellen der Hautsinnesorgane; grüne Färbung der Pigmentkörnchen. Vergröss. ca. 320.