

Essentially only WAWZONEK's data<sup>7a,b</sup> concerned with mechanism *vs.* product studies and BERGMAN's first paper were needed to discuss the theoretical weakness of BERGMAN's *para*-band correlation<sup>8,9</sup>, BERGMAN<sup>8-10</sup>, in making use of CLAR's formidable collection of spectral data ( $\tilde{\nu}$ ), unfortunately also adopted CLAR's terminology without stating a divergent interpretation. Unlike others<sup>11,12</sup> he therefore implicitly concurred with CLAR's views and limiting definitions (e.g. *para*-band = *para*[*meso*]-excitation). This concept, which is CLAR's and not mine<sup>8</sup>, was certainly the premise for my comments<sup>1</sup> because, as such, it makes the correlation<sup>8-10</sup> of «*para*» bands with both anthracene-like «*para*» and phenanthrene-like «*ortho*» reductions rather meaningless.

The state of affairs may constructively be summarized as follows: BERGMAN has correlated the half-wave potential  $E_{1,2}$  (as measure for the electron affinity) with the 'wave number  $\nu$  of the first (highest  $\lambda$ ) *p*-band'<sup>9</sup>, p. 691) and was able to classify some hundred hydrocarbons in five (<sup>9</sup>, p. 693) or six<sup>10</sup> structurally related groups, each giving straight lines. This interesting *empirical* correlation based on such a wealth of experimental data will

undoubtedly lend itself to *theoretical* predictions once more is known about the course of polarographic reductions or better understanding has been derived for the respective UV absorption bands. The concept of *para*-bands, by CLAR's definition and by virtue of BERGMAN's results, is less preferred than the concepts<sup>12</sup> underlying the terms Group II, primary or  $L_a$ -bands (<sup>11</sup>, p. 386) despite the fact that the same numerical  $\tilde{\nu}$  values are involved. Indeed this discussion shows that BERGMAN's correlation may lend itself successfully to further evaluation of the discussed spectral bands.

F. T. WALLENBERGER

4 Vermont Building, Parklynn Apartments, Wilmington (Delaware USA), July 11, 1961.

<sup>9</sup> I. BERGMAN, Trans. Faraday Soc. 52, 690 (1956).

<sup>10</sup> I. BERGMAN, Exper. preceding note.

<sup>11</sup> G. M. BADGER, *The Structure and Reactions of the Aromatic Compounds* (Cambridge University Press, Cambridge 1954); p. 396.

<sup>12</sup> S. F. MASON, Quart. Revs. 15, 287 (1961); see p. 288, 317, 320 and 321.

## PRO EXPERIMENTIS

### Methylmethacrylat als Einbettungsmedium für Insekten

V. HIRSCH und BOELLAARD<sup>1</sup> modifizierten die Einbettungsmethode mit Methacrylsäureestern für die normale histologische Schneide- und Färbetechnik. Mit diesem Verfahren lassen sich auch stark chitinierte Insekten mit gutem Erfolg schneiden. Hierzu sind jedoch einige besondere technische Massnahmen notwendig, die im folgenden mitgeteilt werden.

**Vorbereitung.** Die Objekte werden nach der Fixierung einige Tage zum Herauslösen der Lipide in 70prozentigen Alkohol gelegt. Hierauf kommen sie dreimal je 1 h in frisch gewechseltes Aceton und abschliessend für ca. 4 h in eine Mischung von Methylmethacrylat und 2% wasserfreiem Benzoylperoxyd.

**Einbettung.** Am besten bewährte sich folgende bei V. HIRSCH und BOELLAARD<sup>1</sup> als klares Einbettungsmedium angegebene Mischung: 50 ml Methylmethacrylat stabil, 1 g Benzoylperoxyd wasserfrei, 25 g Polyäthylenglykol 1500. Das klare Einbettungsmedium ist sehr hart, lässt sich aber gut schneiden und ist, da völlig durchsichtig, für ein orientiertes Einspannen des Blockes und ein eventuell nötiges Nachdrehen desselben beim Schneiden sehr geeignet.

Das Einbettungsgemisch wird in gut schliessenden Gefässen im Thermostaten auf 50° erwärmt, wobei sich das Polyäthylenglykol leicht löst. Die Objekte kommen nun in dieses Gemisch und verbleiben darin, bis sie unter-sinken.

Zum Einbetten selbst verwenden wir Glasröhrchen mit Korkstopfen. Auf eine in den Kork eingebaute Nadel wird das Objekt – mit der Schnittfläche nach unten – aufgespiess (Figur 1). Das Einbettungsmedium muss das Objekt mindestens 1 cm überdecken. Diese Röhrchen kommen zum Polymerisieren des Methacrylats in einen Thermostaten bei 60°C. Bei der Polymerisation wird Wärme frei, die leicht zur Bildung von Luftblasen im Polymerisat führt. Deswegen werden die Röhrchen zur besseren Wärmeableitung in Gefässe mit Wasser gestellt. Nach 12–15 h ist die Polymerisation beendet.

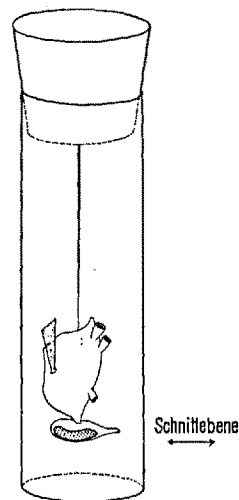


Fig. 1

**Schneiden.** Die Gläschen werden zerschlagen und der Block an einer Drehbank abgeschliffen oder mit einer feinen Säge bis zum Objekt abgeschnitten. Wir spannen die so erhaltenen Blöcke direkt in die Objektklammer eines schweren Mikrotoms (Tetrander der Fa. Jung, Heidelberg) ein. Zum Schneiden bewährten sich schräg gestellte c-Messer mit Sonderhärtung. Block und Messer werden mit 50prozentigem Alkohol befeuchtet. Es lässt sich nicht vermeiden, dass sich die Schnitte einrollen. Das nachträgliche Entrollen wird erleichtert, wenn man gleich zu Anfang den Schnitt nicht ganz vom Block abtrennt, sondern nach Passieren des Objektes mit der Weiterführung des Mikrotomschlittens innehält. Mit 2 befeuchteten Pinseln wird der Schnitt auf dem Messer in Schnittrichtung ausgerollt und dann erst ganz vom Block abgeschnitten.

**Aufkleben.** Die Objektträger werden nach APATHY (S. ROMEIS<sup>2</sup>) präpariert und bis zum Aufsteigen weisslicher Akroleindämpfe über der Flamme erhitzt. Dann tropft

<sup>1</sup> TH. V. HIRSCH und J. W. BOELLAARD, Z. wiss. Mikrosk. 64, 24 (1958).

<sup>2</sup> B. ROMEIS, *Mikroskopische Technik* (München 1948), p. 546.

man soviel eines Gemisches aus 5 Teilen 96prozentigem Alkohol und 1 Teil Butylglykol auf, dass die überführten Schnitte darin schwimmen.

Dünnere Schnitte (unter  $8\ \mu$ ), die sich auf dem Messer schlecht ausbreiten lassen, gibt man vor dem Überführen in ein Gefäß mit obiger Mischung, wo sie sich mit 2 Pinseln nach einiger Zeit leicht ausbreiten und dann aufziehen lassen. Die von BOELLAARD und v. HIRSCH<sup>1,3</sup> und von WILLER<sup>4</sup> verwendeten Verfahren, den Schnitt vorher in Alkohol zu übertragen, erwies sich für Chitinschnitte als ungünstig, da zwar die Rollung des Einbettungsmediums leicht zu korrigieren ist, aber das Chitin die Verkrümmung, namentlich bei dickeren Schnitten, meist beibehält.

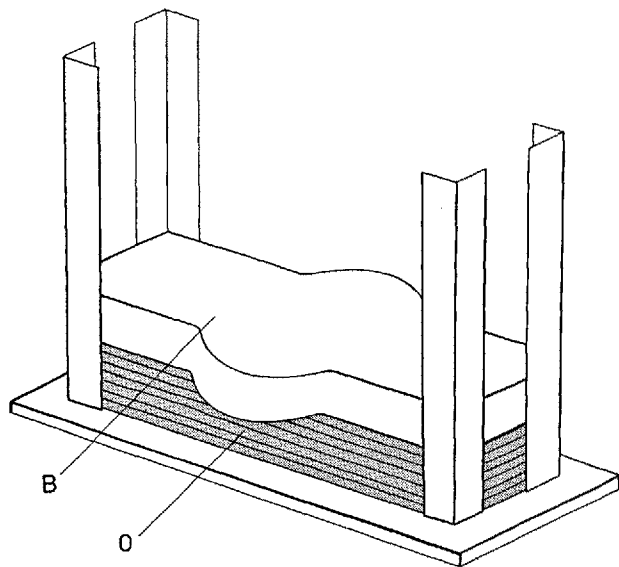


Fig. 2. Metallgestell für das Aufeinanderschichten mehrerer Objektträger. B = Bleiklotz zum Beschweren, O = Objektträger.

Die Schnitte werden stark mit einem Fliesspapier angedrückt und mit einem zweiten, unbehandelten Objektträger beschwert. Wir verwenden zum Übereinanderschichten mehrerer Objektträger ein Metallgestell (Figur 2). Die Objektträger werden mit einem Bleiklotzchen beschwert und kommen zum Trocknen für mehrere Stunden in einen Thermostaten von  $40^\circ$ .

**Nachbehandlung.** Das Einbettungsmedium wird im Methylglykolacetat herausgelöst, wo sich auch nach einigen Minuten das Fliesspapier ablöst. Nach dreimal 10 min Methylglykolacetat übertragen wir die Objektträger in eine 0,5prozentige Celloidinlösung und färben anschließend nach einer der üblichen Methoden.

Für weitere Einzelheiten dieser Technik verweise ich auf die Originalarbeiten von BOELLAARD und v. HIRSCH<sup>1,3</sup>. Wir erhielten so bei einer Schnittdicke von  $10\ \mu$  lückenlose Serienschnitte von Bienen, auch von sonst schwer schneidbaren Teilen, wie Mandibeln, Episternalzapfen und Coxen<sup>5</sup>.

**Summary.** The methylmethacrylate method, as developed by v. HIRSCH and BOELLAARD has also proved most successful for the preparation of histological sections of insects with a hard chitinous exoskeleton. This report deals with technical variations of the above method, developed for our special needs.

W. RATHMAYER

Zoologisches Institut der Universität München (Deutschland),  
10. Juli 1967.

<sup>3</sup> J. W. BOELLAARD und Th. v. HIRSCH, *Mikroskopie* 13, 386 (1959).

<sup>4</sup> W. WILLER, *Mikrotomnachrichten der Fa. Jung* 5, 88 (1961).

<sup>5</sup> Herrn Dr. BOELLAARD und Herrn HIRSCHBERGER möchte ich für wertvolle Hinweise herzlich danken.

## CONGRESSUS

### France

#### Conférence internationale du Caoutchouc

Paris, du 14 au 18 mai 1962

L'Institut Français du Caoutchouc organise sous les auspices de l'International Rubber Research and Development Board une Conférence internationale sur le caoutchouc qui se tiendra à Paris du 14 au 18 mai 1962.

L'Institut Français du Caoutchouc a établi un programme de communications qui seront faites respectivement, pour le caoutchouc naturel, par les Instituts des planteurs et pour les caoutchoucs synthétiques par des chercheurs et techniciens spécialistes de ces produits.

Tous renseignements supplémentaires peuvent être demandés soit à l'Office international du caoutchouc, section suisse, Zurich 4, Badenerstrasse 29, soit au Secrétariat de la Conférence, c/o M. DAUGY, 42, rue Scheffer, Paris XVIème.

### Israel

#### First International Conference on Paramagnetic Resonance

Jerusalem, July 16–20, 1962

1. Paramagnetic Resonance of Transition Elements the Iron Group, the Rare Earth Group, the Uranium Group, the Palladium and Platinum Group. 2. Double Resonance ENDOR Experiments. 3. Theoretical Advances in Energy Level Calculations. 4. Resonance Spectra of Point Defects and Radiation Centers in Single Crystals. 5. Spectra of Ion Pairs. 6. Relaxation Phenomena and Line Shape Correlation with Paramagnetic Relaxation Experiments. 7. Correlation of Paramagnetic Resonance Spectra with Optical Spectra. 8. Advances in Experimental Techniques.

In order to achieve a program of interest and balance, the Organizing Committee will make a careful selection of the papers. An abstract of about 200 words should reach W. Low, Conference Secretary, The Hebrew University of Jerusalem (Israel) by February 1, 1962.

For further information please contact the Conference Secretary: W. Low, The Hebrew University of Jerusalem (Israel).