heraus, und, sogleich zusammenfliessend, bedeckt es die Klinge un-
ausgesetzt mit einer Wasserschicht von gewisser Dicke, auch dann
wenn wir die Klinge mit Oel leicht bestreichen, oder es von der
Einbettungsmasse fett geworden ist. Es ist aber, um dies zu er-
reichen nothwendig, dass die Klingenfläche in horizontaler Lage,
noch besser in etwas schiefer Lage sich befinde.

Unter die schneidenden Hände stellen wir eine Porzellan-,
Glas- oder Zinktasche zum Auffangen des abfliessenden Wassers und
der Schnitte auf, indem das auf dem Messer fliessende Wasser die
Schnitte gleich herunterschwemmt, was begreiflicher Weise ein we-
sentlicher Vortheil des Instrumentes ist ¹⁾. Um mit meinem Messer
auch noch viel grössere Schnitte machen zu können, finde ich es
für nothwendig, dass das an der Klinge liegende Rohr nicht un-
mittelbar anliege, sondern sich einige Millimeter höher befinde, da-
mit der Schnitt zwischen Rohr und Klinge durchschwimmen könne.
Herr Fischer arbeitet jetzt an der Ausführung dieser Modifi-
cation.

Ueber das E. Hermann'sche Kernfärbungsverfahren.

Von

Walther Flemming

in Kiel.

Die betreffende Methode ist von Hermann 1875 auf der
deutschen Naturforscherversammlung in Graz ²⁾ mitgetheilt wor-
den; sie beruht auf dem Princip, einer Ueberfärbung mit Anilin-
farbstoffen oder Azofarbstoffen eine Ausziehung mit absolutem Alko-
hol folgen zu lassen, bis die Farbe nur noch in den Zellkernen
haftet, und das Object in diesem Zustand durch Nelkenöl- und
Harzdurchtränkung zu fixiren. Der Kunstgriff überhaupt, eine Kern-
tinction durch vorgängiges Ueberfärben und nachfolgendes Wieder-

1) Peter Fischer & Comp. (Budapest, Hatvanergasse) verkauft das
Messer für 8 Gulden ö. W., den Irrigator sammt Kautschukrohr für 4 Gulden
ö. W.

2) Tagblatt, p. 105.

entfärben zu erzielen, war bekanntlich schon früher geübt ¹⁾, und Anilinfärbungen für histologische Zwecke früher gemacht worden; das Neue und Vortheilhafte an Hermann's Verfahren lag wesentlich darin, dass es die schönsten und reinsten Kerntinctionen mit Anilinfarbstoffen auch unter Entwässerung mit Alkohol und Aufhellung, und zugleich mit unverwüstlicher Haltbarkeit in Harzeinschluss ermöglichte ²⁾.

Wenn ich mir hier einige Bemerkungen über eine Methode erlaube, die ein Anderer gefunden hat, so habe ich dazu mehrfachen Anlass. Erstens brauche ich dieselbe in etwas anderer Form, als sie von Hermann a. a. O. mitgetheilt ward. Ferner habe ich mich in mehreren Publicationen ³⁾ einfach auf die „Hermann'sche Anilintinction“ bezogen, ihr Bekanntsein voraussetzend; aber manche Zuschriften und Erkundigungen mussten es mir wahrscheinlich machen, dass die Methode unverdientermassen sehr wenig zur Verbreitung gelangt ist. In neueren technischen Handbüchern und Schriften, so auch in den werthvollen und reichhaltigen Mittheilungen Paul Meyer's über die in der zool. Station in Neapel gebrauchten histologischen Arbeitsweisen ⁴⁾, wird sie nicht berücksichtigt, und am letzteren Orte die Anilin-

1) Von Schweigger-Seidel wurde er wohl zuerst unter Färbung mit Carmin, Entfärbung mit Salzsäure oder Essigsäure benutzt. Die Färbung mit Rosanilin, und Rückentfärbung mit schwachen Säuren oder sehr verdünntem Alkohol, wurde schon 1867 von Friedländer angegeben (Studien über automatische Herzbewegung. Unters. a. d. phys. Institut z. Würzburg, 1. Theil), und ist seitdem, wie von mir, so gewiss von manchen Histologen zur raschen Demonstration in Cursen benutzt. Solche Präparate sind aber schlecht haltbar, und die Färbungsgrade schwanken sehr.

2) Den Versuch, mit Anilin gefärbte Präparate durch Alkohol zu entwässern, haben gewiss Viele schon eher gemacht, haben sich aber — wie es wenigstens mir selbst ging — durch die rasche Lösung der Farbe abschrecken lassen und nicht beachtet, dass es einen Zeitpunct giebt, wo der Farbstoff grade an den Zellkernen noch gleichmässig haftet. — Sollten Anderen vor Hermann schon derartige Färbungen gelungen sein, so ist doch meines Wissens nichts darüber publicirt worden. — Seither ist die Technik der Anilinfärbungen bekanntlich von vielen Untersuchern weiter ausgebildet worden (s. die unten erwähnten Arbeiten); aber weniger nach der Richtung hin, die ich grade hier im Auge habe.

3) Dieses Archiv Bd. 13 p. 702, Bd. 16 p. 302 ff., Bd. 18 p. 151 ff.

4) Mittheil. d. zool. Stat. in Neapel, Bd. II Heft 1.

tion überhaupt wenig günstig beurtheilt. Man trifft vielfach auf die Ansicht, dass die letztere neben den sonst gebräuchlichen Färbungsmethoden recht entbehrlich sei, obschon in den letzten Jahren zahlreiche Arbeiten¹⁾ auf pathologischem wie normalem Gebiet den Hinweis gaben, dass gerade von diesen Färbungen noch Viel für den Fortschritt der mikroskopischen Diagnostik zu erwarten ist.

Endlich habe ich ein gewisses eigenes Interesse daran, Andere auf die Leistungsfähigkeit der Hermann'schen Färbung aufmerksam zu machen. Die Darstellung des Kerntheilungsvorganges und die bezüglichlichen farbenschärften Abbildungen, die ich in diesem Archiv (a. a. O.) gegeben habe, sind auf manchen Seiten einem Misstrauen begegnet, welches erst schwand, nachdem ich Präparate gesandt hatte. Jene Darstellung stützt sich grossentheils auf Erzeugnisse des hier besprochenen Verfahrens; und ich begreife sehr wohl, dass Jemand, der noch kein gelungenes Chrom-Safraninpräparat gesehen hat, zweifeln mag ob eine so distincte Färbung von Kerntheilungsfiguren wirklich möglich sei, wie sie die Figuren auf Taf. 17 und 18 Bd. XVI, Taf. 17—19 Bd. XVIII dieses Archivs möglichst getreu nach den Objecten wiederzugeben suchen.

Ich glaube, dass ein erheblicher Theil der Differenzen, welche gegenüber der von mir gegebenen Darstellung des Zelltheilungsvorganges von Seiten Strasburger's und Anderer noch festgehalten werden, schwinden würde, wenn Dieselben Präparaten mit so scharfer Kernfärbung, wie sie vor Allen die Hermann'sche Methode liefert, genaueres Studium zuwenden wollten.

Ich kann nach sehr ausgedehnter vergleichender Untersuchung behaupten, dass eine so detaillirte Feststellung der Kernfädenlage, wie ich sie für Salamandra zu geben vermochte, auch an so grosskernigen Objecten nur erzielbar ist durch schärfste Tinction der Fäden und ferner mit Hülfe des Beleuchtungsapparats, durch den man das Structurbild zurück- und das Farbenbild möglichst hervortreten lässt. Viele der in Strasburger's letztem Werk²⁾

1) Es mag nur an die verschiedenen Arbeiten über Amyloidfärbung durch Methylviolett, an die Bakterinfärbungen (Koch, Weigert) und an die unten zu besprechenden Arbeiten von Ehrlich, Weigert, Westphal erinnern sein.

2) Zellbildung und Zelltheilung. 3. Aufl. 1880.

dargestellten Objecte, an deren Abbildungen dort die Kernfadenfiguren nur undeutlich und verschwommen zu sehen sind, würden nach meiner Ueberzeugung bei obengedachter Behandlung Bilder liefern, welche sich mit meiner Auffassung der Theilungsmechanik ungezwungen vereinigen liessen. Die näheren Belege hierfür gehören an einen anderen Ort.

Die betreffenden Färbungen können nicht in Bausch und Bogen als Anilintinctionen bezeichnet werden, da die meisten, und gerade die besten der dafür zu brauchenden Farben keine Aniline im eigentlichen chemischen Wortsinne sind, sondern Azofarbstoffe.

Bei dem ursprünglichen Verfahren von Hermann wurde die Färbung allerdings mit concentrirter alkoholischer Fuchsinlösung (dem als „Rubinroth“ im Handel gehenden Farbstoff) erzielt. Weiter hat Hermann auch andere Producte der Anilinfarbenfabrication, besonders Safranin und Rose de Naphthaline, herangezogen¹⁾, welche nach meinen Erfahrungen dem Fuchsin vorzuziehen sind.

Ich habe die Methode seit 1875 in meinem Laboratorium stets in Gebrauch gehalten. Was sie mir für meine Zwecke besonders empfahl, war die von dem Erfinder schon erwähnte Möglichkeit, auch an Chromsäurepräparaten damit Erfolge zu finden, welche sonst, wie man weiss, der Kerntinction schlecht zugänglich sind. Denn die vorherige Fixirung mit Chromsäure, oder Pikrinsäure, war für mich Vorbedingung zur guten Erhaltung der Kerntheilungsfiguren; absoluter Alkohol erhält dieselben zu schlecht oder doch zu unsicher, wenigstens an den meisten Thiergeweben. — Nach Hermann's eigner Angabe „müssen die Präparate in Alkohol gehärtet sein; gut sei es, wenn sie vor der beginnenden Härtung einige Zeit in Chromsäure gelegen hätten.“ Ich fand sehr bald, dass die erstere Bedingung, die Nachhärtung in Alkohol, überflüssig ist, und zwar zum Vortheil für die Erhaltung der Kerne und Kernstructuren; denn vielfach, aus unberechenbaren Gründen, erleiden diese durch Alkoholnachbehandlung noch Schrumpfungen und Veränderungen.

1) Nach mündlicher Mittheilung meines verstorbenen Freundes E. Fischer, eines Schülers von Hermann, dem ich die Kenntniss der letzteren Farbstoffe verdanke. Eine weitere Publication von Hermann selbst über sein Verfahren, ausser der bereits angeführten, ist mir nicht bekannt geworden.

Nach vielfachem Probiren finde ich für reine Kerntinction die folgende Anwendung des Verfahrens am Besten:

Die Präparate werden in Chromsäure von 0,1 bis 0,5 p. c. fixirt¹⁾. Es ist für die nachherige Färbung gleichgültig ob sie in der Chromsäure kürzer oder länger verweilen (wenige Stunden bis Monate lang). Weichere Gewebe werden aber in Chromsäure oft nach einigen Wochen bis Monaten so brüchig, dass man sie nicht länger darin lassen sollte. Will man in Alkohol nachhärten, so müssen die Präparate vorher rein durch Auswaschen von Chromsäure befreit sein; um Schrumpfung möglichst zu vermeiden habe ich schon lange die Praxis, zunächst in verdünnten, dann erst in starken Alkohol zu übertragen.

Zum Färben sind nur Schnitte, oder dünne, platte, leicht transfundirbare Stückchen der eingelegten Präparate, nicht diese in toto zu verwenden. Die Schnitte oder Stückchen müssen in destillirtem Wasser rein ausgewaschen sein, wenn dies nicht schon vorher mit dem eingelegten Präparat in toto geschah. Sie kommen dann direct in eine beliebige Menge, am bequemsten nur etwa 1 ccm, einer Lösung von Safranin (oder einer der andern unten erwähnten Farben) in absolutem Alkohol, etwa halb mit destillirtem Wasser verdünnt (wenn Dahlia angewandt wird, diese am besten in wässriger oder auch essigsaurer Lösung ohne Alkohol) und bleiben darin 12 bis 24 Stunden²⁾ in bedecktem Näpfchen. Die sehr dunkle Tinktur wird dann in ein flaches Schälchen gegossen, um die Objecte leicht zu finden (deshalb empfiehlt es sich, wenig Tinctur zu nehmen) und die letzteren in ein weisses Schäl-

1) Die Concentration muss sich, wie wohl bekannt, nach dem Gewebe richten, wenn man gute Erhaltung haben will.

2) Pfitzner (Die Epidermis der Amphibien. Morphol. Jahrb. Bd. VI, siehe p. 180) hat bei seinen hiesigen und weiteren Arbeiten viel verdünntere Lösungen und kürzere Einwirkungsauern angewandt; dieselben können für sehr dünne Schnitte auch völlig genügen, bei denen die Ausziehung mit Alkohol nur kurz zu dauern braucht; im Allgemeinen finde ich aber bei vielfach wiederholtem Probiren den Erfolg sicherer, die Färbungen stärker an den Kernen haftend und schöner, wenn lange und nur mit stärkerer Lösung gefärbt wird.

Es muss also doch wohl bei letzterem Verfahren irgendwie eine innigere Art der Verbindung von Farbe und Chromatin des Kerns zu Stande kommen, als es bei kürzerer Tinction oder in dünnen Lösungen geschieht.

chen mit Alkohol übertragen, in dieser durch kurzes Schütteln von der ärgsten Farbe befreit und in ein zweites weisses Schälchen mit Alkohol absolutus geworfen. In diesem bewegt man sie herum, eine halbe Minute bis länger — die Dauer richtet sich nach der Durchtränkbarkeit des Gewebes und Dicke des Objects — bis keine sichtlichen Farbwolken mehr abtreiben, und das Object ein in der gewählten Farbe durchscheinendes Ansehen bekommen hat.

Dieser Entfärbungsgrad, bei welchem grade die Kerne noch scharf tingirt sind, wird natürlich rascher an Schnitten erreicht, wo der Alkohol von beiden Seiten eindringen kann, als an mit Epithel bedeckten Stücken, und rascher an dünnen als dickeren Objecten; daher sind bestimmte Zeitangaben unmöglich.

In diesem Zustand kann man die Präparate nun entweder gleich aufhellen und dauernd in Lack einschliessen, oder auch behufs vorläufiger Durchmusterung in Aq. destillata übertragen, in welchem sich die Kernfärbung längere Zeit unverändert hält.

Soll dauernd eingeschlossen werden, so wird das Object aus Alkohol absolutus auf Nelkenöl übertragen, und sobald ganz durchtränkt, mit kalter Damarlösung¹⁾ oder verharztem Terpentin eingedeckt, — und zwar rasch, weil das Nelkenöl noch Farbe auszieht. Creosot thut dies in noch höherem Grade und empfiehlt sich hier deshalb nicht zum Aufhellen. Der Damarlack zieht nichts mehr aus.

Präparate dieser Art hielten sich nach meinen bisherigen Erfahrungen drei Jahre lang völlig unverändert in der Farbe, wahrscheinlich viel länger, und werden auch durch längeres Liegen am Licht nicht geändert; während Chromsäure-Hämatoxylinobjecte, auch in Lackeinschluss, mir in der gleichen Zeit meistens erheblich abgeblasst sind.

Für Präparate, die ohne vorherige Chrombehandlung nur in Alkohol gehärtet waren, kann das gleiche Färbungsverfahren gelten; es kommt hier aber in Betracht, dass bei längerem Verweilen in Alkohol die Disposition für die Färbung der Kerne mit den hier besprochenen Farbstoffen verloren geht, was schon Hermann bekannt war und von Westphal (a. unten a. O.) näher ausgeführt ist.

1) Ich verwende stets Damar in Terpentin und Benzol, zu etwa gleichen Theilen, warm gelöst und zu Syrupconsistenz abgedunstet. Damit eingeschlossene Objecte haben sich jetzt seit 9 Jahren unverändert gehalten, ohne dass weitere Umziehung mit Lack nöthig gewesen wäre.

Ausser dem Safranin habe ich bis jetzt für die gleiche Kern-tinction noch folgende Farbstoffe versucht:

Magdala-Roth oder Rose de Naphthaline;

Dahlia (Monophenylrosanilin), von Zuppinger zuerst benutzt und besonders von Ehrlich (a. unten a. O.) verwerthet;

Mauve oder Mauvëin¹⁾;

Rouge fluorescent²⁾;

Solidgrün³⁾;

Ponceau⁴⁾;

Orange⁵⁾; endlich

Fuchsin, die von Hermann ursprünglich benutzte Farbe;

Eosin und Bismarckbraun.

Für's Erste ergab sich dabei noch kein sicherer Anhalt, um aus der chemischen Constitution der Körper auf die Art ihrer Tinctionswirkung zu schliessen. Eosin und Ponceau sind für das hier in Rede stehende Verfahren nicht brauchbar, sie färben das Protoplasma und die Intercellularsubstanzen diffus mit, und werden durch Alkohol aus den Kernen ebenso rasch, wie aus jenen wieder ausgezogen. Während man voraussetzen sollte, dass das Orange, in seinem chemischen Charakter dem Ponceau ähnlich, auch ähnlich wirken würde, ist dies nicht der Fall; es färbt nicht diffus, liefert vielmehr ähnliche Kernfärbungen wie Safranin, aber viel schwächere, so dass es sich nicht empfiehlt.

Mit den sämmtlichen übrigen Farbstoffen lassen sich, an Präparaten aus Chromsäure oder Chromsäure-Alkohol, in der angegebenen Weise gute Kernfärbungen erzielen. Mauvëin und Rouge fluorescent geben jedoch leichter als die übrigen ungleiche Färbungen (in der Art, dass die einen Kerne im Object mehr Farbstoff zurückhalten als die anderen). Ich kann nicht sagen, ob dies vielleicht an

1) Salzsäures Salz einer der Safraninbase nahestehenden Base.

2) Ebenso.

3) Oxalsäures Salz einer Farbbase, welche erhalten wird durch Oxydation der E. Fischer'schen Leukobase: Tetramethyltriphenylmethan; dem Malachitgrün in Bezug auf chem. Constitution conform.

4) Natronsalz der sauren Verbindung Diazoxylolsulfosäure-Naphthol.

5) Natronsalz der sauren Verbindung Diazobenzolsulfosäure-Diphenylamin. Die Farbstoffe sind meist aus der chem. Fabrik der Herren Bindschedler u. Busch in Basel bezogen, denen ich auch den Aufschluss über ihre chemische Stellung verdanke.

geringerer Reinheit der Farbstoffe liegen mag. Die Färbungen mit Solidgrün sind blasser als die mit Safranin und Magdala, wenn schon für das Studium der Kerntheilungsfiguren ziemlich ausreichend. Das Solidgrün hat eine Eigenschaft, die es vielleicht bei Specialstudien über die Kernsubstanzen noch nützlich machen wird; es wird bei der Ausziehung mit Alkohol rascher wie andere Farben aus der Zwischensubstanz des ruhenden Kernes völlig entfernt, haftet aber an den Gerüststrängen relativ stark und, wenn auch diese entfärbt sind, noch besonders lange und hartnäckig an den Nucleolen. Solche Präparate zeigen recht deutlich, was ich a. a. O. vielfach hervorgehoben habe: dass die Nucleolen stofflich etwas Anderes sind, als die Kerngerüststränge und ihre Verdickungen.

Das Fuchsin giebt, bei gleicher Anwendung, schöne und reine, aber etwas blässere Tincturen als Magdala, Safranin, Dahlia und Mauvëin. Es bleibt sich in dieser Beziehung gleich, ob man es in stärkster, oder in verdünnter Lösung verwendet.

Die Weigert'sche Färbung¹⁾ mit Bismarckbraun hat mir an Alkoholpräparaten sowie an frischen (an letzteren in der Modification von Mayzel, die Farbe in verdünnter essigsaurer Lösung angewandt) recht gute, wenn auch nicht ganz reine Kerntinctionen gegeben; auch nach Weigert's eigener Angabe werden Protoplasmen und Bindegewebsmassen mehr oder weniger mitgefärbt. An Chromsäurepräparaten in der Hermann'schen Weise verwendet, hat das Bismarckbraun mich dagegen sehr wenig befriedigt. Ich muss es aber dahinstehen lassen, ob daran vielleicht Unreinheit des Farbstoffs, den ich bezog, die Schuld trägt.

Mit Safranin, Magdala und Dahlia bin ich durchweg am meisten zufrieden gewesen. Sie haften besonders gut und rein an den Kernen, werden an Intensität der Farbe keinem der anderen Mittel übertroffen, und geben keine unreine Tinctionen in der Art, wie es vom Mauvëin und Rouge fluorescent erwähnt wurde; auch werden sie langsamer als die übrigen durch den Alkohol aus den Kernen vollends ausgezogen, was die Montirung der Präparate bequemer macht. — Dahlia wird wie schon erwähnt, bei der Tinction besser in alkoholfreier Lösung verwandt (einige Stunden genügen), nachher wie gewöhnlich mit Alkohol ausgezogen. Mit Rücksicht auf die Angaben Ehrlich's (s. unten) vermuthete ich, dass saure

1) Dieses Archiv Bd. 15 p. 258.

Dahlialösungen auch Chromsäurepräparate besser und constanter färben würden als neutrale, sah mich aber getäuscht: die neutralen leisten hier ganz das Gleiche.

Die Angabe Hermann's, dass die in Wasser löslichen Farbstoffe für seine Tinction unbrauchbar seien, bestätigt sich nicht; sämmtliche oben angeführten Farben sind in destillirtem Wasser löslich, ausgenommen Magdalaroth, das diese Löslichkeit wenigstens nur in sehr geringem Grade besitzt¹⁾.

An Pikrinsäurepräparaten giebt Dahlia, in obiger Weise angewandt, zwar nur sehr schwache Kerntinctionen, aber äusserst scharfe Hervorhebung von Körnereinschlüssen in Leukocyten und in verästelten Zellen der Binde substanz.

Ich habe mich viel, aber bisher vergeblich bemüht, für diese Kerntinctionen ein noch exacteres und bequemerer Verfahren zu finden. Beim Auswaschen in absolutem Alkohol wird dieser durch die aus dem Object kommende Farbe leicht tingirt; in solchen schwach gefärbten Lösungen können die Objecte, wenn sie den Punkt reiner scharfer Kerntinction erreicht haben, einige Zeit lang unverändert verweilen. Man sollte nun danach denken, sie würden vielleicht den gleichen Tinctionszustand erhalten, wenn man sie von vorn herein in solchen ganz schwachen Lösungen, statt in starken färbte. Dies ist aber nicht der Fall; in den schwachen Lösungen gerathen die Tinctionen bei weitem zu gering. — Ich bin bei allem Probiren stets wieder auf das zurückgekommen, was schon Hermann bekannt war und was seitdem auch Ehrlich und Westphal gefunden haben: dass es am besten ist, mit wässrig verdünnten alkoholischen Lösungen zu tingiren. Meine Modification gegenüber Hermann's Angaben besteht nur darin, dass ich auf lang dauernde Färbung mit starken Farblösungen besonderen Werth legen muss.

Ehrlich²⁾ und Westphal³⁾ haben seit 1876 viele Anilin-

1) Dies kann ich allerdings nur für die Farbstoffe aussagen, die ich aus der angegebenen Quelle bezog, nicht für die Producte anderer Fabriken.

2) P. Ehrlich, Beiträge zur Kenntniss der Anilinfärbungen etc. Dies Archiv Bd. 13, p. 263. — Derselbe: Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukocyten. Zeitschr. f. klin. Medicin Bd. I. Heft 3.

3) E. Westphal, Ueber Mastzellen. Inaug.-Diss. Berlin, 31. Jan. 1880.

färbungen einer sehr ausgedehnten, methodischen Prüfung unterzogen, deren Resultate ich freilich für meine Zwecke noch nicht nutzbar machen konnte. Denn ihre Arbeiten zielten nicht so sehr auf das, worauf es mir ankam, auf starke ausschliessliche Färbung der Kernsubstanzen, sondern vorwiegend auf Hervorhebung der Körnereinschlüsse in den Zellenformen, welche Ehrlich unter dem Namen Mastzellen bekannt gemacht hat, und in Leukocyten. Für diese Zwecke haben die Arbeiten beider Forscher zu einer sehr erwünschten Ausbildung und Sicherung der Methode geführt. Bei darauf gerichteten Versuchen fand ich jedoch, dass die von Westphal (a. a. O. p. 14 ff., p. 17) angegebenen Regeln zwar gültig sind für Alkoholpräparate¹⁾, für die sie auch nur aufgestellt wurden, aber nicht für Kernfärbungen an Chromsäurepräparaten²⁾. Für solche finde ich, nach vielem und ermüdendem Probiren unter Berücksichtigung von Ehrlich's und Westphal's Angaben, keine bessere Methode als die, welche oben beschrieben ist, und welche mir vor der Hand genügte. Eine weitere methodische Durchprüfung der Anilin- und Azofarbstoffe für die Histiologie dürfte für Unternehmer, die viel Zeit dafür aufwenden können, eine sehr dankbare Aufgabe sein.

1) Nur den Ausspruch Westphal's (p. 15), dass concentrirte alkoholische Lösungen von Fuchsin und Dahlia nicht im Stande seien, irgend ein anatomisches Element zu tingiren, kann ich nicht zugeben. Ich finde vielmehr, dass solche Lösungen (ohne jeden Wasserzusatz, auf Präparate aus absolutem Alkohol ohne vorherige Chrombehandlung angewandt, Alkoholhärtung einige Monate) vielmehr alle Gewebstheile, Protoplasma, Kerne, Intercellularsubstanz, bei mehrstündiger Einwirkung intensiv tingiren; zieht man dann mit Alk. absol. längere Zeit aus, so erhält man nach Aufhellung mit Oel vorwiegende Kerntinction, aber immer noch unter starker Mitfärbung der übrigen Elemente. Der dafür benutzte Dahliafarbstoff war aus Ehrlich's Quelle (Herr Apotheker J. Frank in Freiburg) bezogen. — Ein solches, stark und diffus gefärbtes Fuchsinpräparat braucht man dann nur auf kurze Zeit in Aq. destillata zu thun und wieder in absoluten Alkohol zu bringen, um alle Kerne und Zellenleiber zu entfärben und nur die Körnungen der Mastzellen tingirt zu behalten.

2) Ich erinnere z. B. daran, dass neutrale und saure Dahliälösungen sich Chromsäurepräparaten gegenüber ganz gleich verhalten (s. oben), während bei Alkoholpräparaten (Westphal, p. 16) ein wesentlicher Unterschied in ihrer Wirkung obwaltet. — Das Färben mit sauren Lösungen hat mir für gleichmässige Kern tinctionen auch bei anderen Farbstoffen keinen Vortheil gewährt.

Ich bin weit davon entfernt, das hier besprochene Verfahren zu überschätzen. Es findet in meiner Werkstätte nur beschränkte Anwendung neben den übrigen Färbemitteln: Carmintincturen, Pikrocarmin, Hämatoxylin, Methylviolett, welche es niemals wird entbehrlich machen können. Ja es hat ihnen gegenüber einige erhebliche Nachtheile. Der grösste ist, dass das Hermann'sche Verfahren sich nur für Objecte eignet, die beim Uebertragen in Alkohol sehr rasch von diesem durchdrungen werden können: also entweder Schnitte oder dünne Flächenpräparate. Bei allen dickeren, oder schwer diffundiblen Objecten wird bei der Alkoholauswaschung der Farbstoff bereits aus den oberflächlichen Schichten entfernt, während er in der Tiefe noch diffus vertheilt ist; man erhält von solchen also niemals gleichmässig tingirte Präparate. Für das Durchfärben grösserer Stücke vor dem Schneiden ist also diese Tinction durchaus unbrauchbar. — Ein anderer Uebelstand ist, dass die Präparate in Glycerin und Kali aceticum nicht Farbe halten, so dass man für längere Aufbewahrung stets auf die starklichtbrechenden Harze angewiesen ist, in denen ja alle nichtgefärbte feinere Structur an Deutlichkeit sehr verliert. Wo es auf diese ankommt, muss man sie also vor dem dauernden Einschluss, in Wasser (s. oben) studiren. — Endlich muss man es hinnehmen, dass nicht alle Präparate in durchaus gleicher Färbungsintensität gerathen; denn schon ein geringer Unterschied in der Dauer der Alkoholauswaschung bewirkt darin Verschiedenheiten.

Aber bei alledem ist die Methode für einen Zweck kaum übertrefflich; und deswegen habe ich sie hier in Erinnerung gebracht. Wo es darauf ankommt, an Chromsäurepräparaten reine Kerntinctionen zu machen, und zwar die schönsten, schärfsten, die sich bis jetzt überhaupt liefern lassen: da kommt ihr kein anderes Verfahren gleich. — Die lange vernachlässigte Chromsäure ist in neuerer Zeit wieder zu Ehren gekommen¹⁾; sie hat für die Kenntniss der Zellstructuren und Zelltheilungsvorgänge als Fixirungs-

1) Ich darf dafür auf Mayzel's und meine Arbeiten verweisen. S. dies Archiv Bd. 16, p. 328 und das dortige Lit.-Verzeichniss. Ich unterlasse nicht daran zu erinnern, dass hier nur von Chromsäure, nicht von den chromsauren Salzen die Rede ist, welche letzteren für intracelluläre und nucleare Structur nur sehr unsichere Reagentien sind.

mittel viel genützt, und wird bei weiteren Studien darüber unter den Reagentien nicht fehlen dürfen; sie wird aber ihren vollen Nutzen stets erst in Verbindung mit Tinction leisten können. Und Kerntinctionen reiner Art und von wirklicher Schärfe sind an Chromsäurepräparaten weder mit Carmin, noch Essigcarmin, noch Alauncarmin oder Picrocarmin, noch endlich mit Anilinen bei anderem Verfahren als dem Hermann'schen, zu gewinnen. Ich kenne nur ein Mittel und habe es auch viel benutzt (s. a. a. O.), das bei günstigster Wirkung gleich schöne Kernfärbung an Chromsäureobjecten geben kann, wie die Hermann'sche Tinction, dies ist Hämatoxylin. Aber es ist viel unsicherer. Während bekanntlich nichts leichter fällt, als mit irgendeiner der gebräuchlichen Hämatoxylin-tincturen an Alkohol- oder Chromkalipräparaten sehr reine und brillante Kernfärbungen zu machen, misslingt dies in den meisten Fällen an Chromsäurepräparaten. Man erhält hier mit stärkeren Hämatoxylinlösungen stets Mitfärbung des Zellplasma und der Intercellularsubstanzen¹⁾, und sieht sich auf den Gebrauch von schwächeren, am besten ganz dünnen verwiesen. Da aber bekanntlich die Hämatoxylinlösungen äusserst veränderlich sind, je nach der Menge Hämatëin, das sie durch Ammoniakaufnahme aus der Luft bilden, und vielleicht noch aus anderen, nicht näher bekannten Ursachen; da ferner das Färbungsvermögen je nach der Dauer der Chromsäurehärtung verschieden ist: so lassen sich für dies Tingiren gar keine sicheren Regeln geben, man bleibt immer auf ein zeitraubendes Herausprobiren „guter“ Hämatoxylinlösungen und der geeignetsten Verdünnungsgrade angewiesen. Die besten Färbungen, die ich auf solche Weise gewonnen habe, stehen allerdings meinen besten Anilinpräparaten sonst in nichts nach, — nur leider darin, dass sie nach längerer Zeit auch in Harzeinschluss abzublassen pflegen. — Bei dieser Sachlage wende ich das Hämatoxylin für Studium über Kernstructuren meistens nur dort an, wo sich die Hermann'sche Färbung nicht brauchen lässt oder doch sehr unsicher ist (Pikrinpräparate); oder dort, wo grade einige Mitfärbung des Zellplasma oder der achromatischen Kernfäden gewünscht wird.

In Summa: Wo es sich darum handelt, die natürliche Structur in Zellkernen und an Kerntheilungen so treu zu

1) Dasselbe gilt für Pikrinpräparate.

conserviren, wie dies besonders durch Chromsäure gelingt; und weiter, die so fixirten Kerne und Kernfiguren durch starke Färbung und Aufhellung genau studirbar zu machen: da verdient das hier besprochene Verfahren den Vorzug vor allen andern bis jetzt bekannten. — Wo man dagegen weiter nichts beabsichtigt, als Färbung sämmtlicher Kerne in toto ohne Rücksicht auf besonders naturgetreue Fixirung, sind andere der sonst bekannten Mittel viel bequemer, besonders Alkohol-Alauncarmin.

Es soll hierbei noch erwähnt sein, dass die Chromsäure und ebenso die Pikrinsäure zwar für die meisten Gewebsformen der Wirbelthiere¹⁾ in Bezug auf Structurerhaltung das obige Lob verdient, dass es jedoch einige Zellenarten gibt an denen sie weniger darin leisten, als andere Reagentien. Die rothen Blutzellen der Amphibien sind dafür ein Beispiel. — Ferner ist stets festzuhalten, dass die Concentration der Chromsäurelösungen für das Gewebe, das man behandeln will, ausprobt sein will; ohne dies würde man sich oft enttäuscht finden.

Anhangsweis theile ich noch mit, dass ich auch an mit Osmiumsäure fixirten Kerntheilungen verschiedene Färbungsversuche angestellt habe. Ohne Tinction sind die Theilungsfiguren an solchen Objecten sehr blass, nicht hinreichend erkennbar. Mit Safranin u. a. der obengenannten Farbstoffe, unter nachheriger Auswaschung mit Alkohol und Montirung in Nelkenöl-Lack, gelingen ihre Färbungen zwar stets nur in der Weise, dass das Protoplasma der Zellen leicht mitgefärbt wird, aber doch so, dass die Kernfiguren recht schön studirbar sind. Noch besser gelingt die Tinction an Objecten, die mit dem von Flesch angegebenen Osmium-Chromsäuregemisch²⁾ fixirt sind; und zwar an solchen besonders gut mit Hämatoxylin in stark verdünnter Lösung. — Wenn auch diese Präparate in Bezug auf die Klarheit und scharfe Färbung der Kernfiguren denen nachstehen, welche mit Chromsäure-Anilin oder Chromsäure-Hämatoxylin gewonnen sind, so können sie doch dienen

1) Bei Wirbellosen habe ich bisher an Anthropoden und Mollusken ebenfalls sehr gute Fixirungen erhalten, über Andere noch kein endgültiges Urtheil.

2) Dieses Archiv Bd. 16.

um zu zeigen, dass die Kerntheilungsfiguren durch Osmiumsäure in ganz denselben Phasenformen fixirt werden, wie durch die übrigen von mir gebrauchten Reagentien. Die Längsspaltung der Kernfäden in den Sternformen z. B. ist auch an den Osmiumpräparaten aufs Klarste ausgesprochen; die achromatische Fadenfigur an ihnen sogar vielfach deutlicher, als nach Chrom- oder Pikrinbehandlung.