Kleinere histologische Mittheilungen.

Von

Dr. **P. Schiefferdecker**,

Docent und Prosector zu Rostock.

1) Ueber eine neue Doppelfärbung.

Seit dem Frühjahr 1876 habe ich bei meinen Untersuchungen eine neue Doppelfärbung angewendet, welche ich nach meinen Erfahrungen, und diese beziehen sich auf fast alle Gewebe des thierischen Körpers, nur aufs Wärmste empfehlen kann. Zu dieser Färbung verwende ich einen rothen Farbstoff, das in die Histologie schon seit einiger Zeit von Fischer eingeführte Eosin (Archiv f. mikroskop. Anatomie Bd. XII. p. 349), und mehr blaue, sogar grüne Anilinfarben: Dahlia (Zuppinger, Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. X, p. 256 und Huguenin Correspondenzblatt f. Schweizer-Aezte 1874, p. 55), Methyl-Violett¹⁾ und Anilingrün, welches letztere ich der Güte des Herrn Prof. Merkel verdanke²⁾. Diese drei Farbstoffe wirken im Allgemeinen einander sehr ähnlich, bisweilen indessen zeigen sie bestimmte specif. Verschiedenheiten. Der Hauptvorthail der neuen Methode besteht darin, dass bei zusammengesetzten Organen die einzelnen Gewebsbestandtheile, oder auch einzelne

1) Jürgens: Virch. Arch. Bd. 65. p. 189—195, und Cornil: Comptes rendus 24 mai 1875.

2) Vor Kurzem hat Calberla (Ein Beitrag zur mikroskopischen Technik: Morpholog. Jahrbuch von Gegenbaur. Bd. III. H. 4, p. 625) Versuche über eine Doppelfärbung mit Eosin und Methylgrün mitgetheilt. Ich möchte hier nur bemerken, dass dieser Farbstoff mit unserem Anilingrün nicht identisch ist. Ich habe das Methylgrün und das ebenfalls in jener Arbeit von Calberla empfohlene Indulin noch nicht selbst prüfen können. Weiter möchte ich noch erwähnen, dass ein anderer grüner Anilinfarbstoff, das Smaragdgrün, welches ich ebenfalls der Güte des Herrn Prof. Merkel verdanke, durchaus von dem Anilingrün verschieden ist, und sich als nicht brauchbar zum Zwecke der Gewebsfärbung erwiesen hat.

Schichten desselben Gewebes sehr scharf durch Farbenunterschiede, welche leicht ins Auge fallen, sich trennen, so dass namentlich Demonstrationspräparate sich auf diese Weise in manchmal wirklich überraschender Schönheit herstellen lassen. Dabei harmoniren die einzelnen Farben mit einander sehr gut, so dass die Bilder einen dem Auge angenehmen Eindruck machen. Ferner ist die Methode sehr leicht anwendbar, da die Farbstoffe verhältnissmässig billig sind, die Färbung schnell auszuführen ist, ja man sogar die Gewebe direkt in der alkoholischen Eosinlösung erhärten kann.

Auch die Haltbarkeit der Präparate ist eine genügende, wenn auch mit einigen Beschränkungen. Die Präparate vertragen nur Lackeinschluss, und müssen im Dunklen aufbewahrt werden, da das Licht das Eosin angreift.

Die Verwendbarkeit der Methode ist eine sehr bedeutende, denn erstens liefert sie, wie ich unten noch näher zeigen werde, für die meisten Organe gute Resultate, und dann kann man sie sowohl bei Präparaten, die in Alkohol als auch bei solchen, die in Chromsäure, sogar deren Salzen gehärtet wurden, anwenden, nur sind die Farbentöne in beiden Fällen oft verschieden.

Was nun die Ausführung der Färbung anbelangt, so verfähre ich dabei folgendermassen: Das Eosin wird nach den Angaben von Fischer (Archiv f. mikroskop. Anat. Bd. XII, p. 349) in alkoholischer Lösung hergestellt, von Dahlia, Methyl-Violett und Aniligrün macht man 1procentige wässerige Lösungen¹⁾. Der Gewebsschnitt wird in einem Schälchen mit Alkohol, dem einige Tropfen Eosin zugesetzt sind, gefärbt. Zeitdauer verschieden: von einer halben Stunde bis mehrere Stunden etc., zu langes Verweilen in dem Eosin schadet nichts. Darauf spült man den Schnitt in Wasser ab, wobei er etwas Eosin verliert, da dasselbe, wie bekannt, in geringem Grade in Wasser löslich ist. Sodann legt man denselben in ein mit einer Lösung einer der andern Farbstoffe gefülltes Uhrschälchen und lässt ihn darin einige Minuten liegen, bis er sehr intensiv, fast schwarz gefärbt erscheint. (Hier kann man, namentlich wenn es sich um sehr kleine Präparate handelt, die man in der dunklen Flüssigkeit leicht verlieren

1) Alkoholische Lösungen dieser Farbstoffe färben zu wenig, um brauchbar zu sein. Daher kann man auch nicht das Eosin mit den anderen Farben mischen.

kann, entweder die Lösung verdünnen und länger einwirken lassen, oder, noch besser, man legt in die gewöhnliche Lösung ein Stückchen Fliesspapier so, dass es am Rande über das Uhrschälchen hinausragt. Auf dieses Fliesspapier legt man dann die Präparate gerade an die Flüssigkeitsgrenzen. Wenn die Färbung genügend ist, zieht man das Fliesspapier mit den daran haftenden Schnitten heraus und spült letztere herunter.) Nachdem man den Schnitt dann wieder in Wasser abgespült hat, legt man ihn in Alkohol. Dieser hat die Eigenschaft, beide Farbstoffe in hohem Grade zu lösen, und es ist dieser Moment daher der schwierigste bei der Färbung, da es darauf ankommt, den richtigen Augenblick zum Herausnehmen der Schnitte zu treffen, d. h. den Zeitpunkt, an dem die beiden Farbstoffe grade genügend ausgezogen sind, um dem Präparat die richtige Farbenintensität zu geben. Man lernt das indessen bald beurtheilen. Auch geht es sehr gut, dass man den Schnitt herausnimmt, in Nelkenöl unter dem Mikroskop betrachtet und, falls die Färbung noch zu intensiv ist, wieder in Alkohol zurücklegt. Im Allgemeinen ist es besser die Präparate herauszunehmen wenn sie eigentlich noch zu blau sind, da das Eosin etwas schneller ausgezogen wird als die anderen Farbstoffe. Es geht dies sehr gut, da das Nelkenöl, in welches man die Präparate nach dem Alkohol hineinthut, das Eosin nicht mehr angreift, dagegen die anderen Farbstoffe (in etwas verschieden hohem Grade) löst. So kann man dann ein beliebiges Farbenverhältniss erzielen. Ist die richtige Färbung erreicht, so saugt man das Nelkenöl mittelst Fliesspapier möglichst vollständig von dem auf dem Objectträger befindlichen Präparate ab (am besten, indem man das Papierstückchen an die eine Seite des Präparats legt, und dann den Objectträger schräg stellt) und benutzt dann Canadabalsam in Chloroform gelöst zum Einschluss. In diesem tritt weiter keine Veränderung mehr ein. Ist noch zuviel Nelkenöl zurückgeblieben, so tritt ein weiteres Ausziehen des blauen Farbstoffs ein, in Folge dessen dann das Object von einem blauen Hofe umgeben ist. Es ist das also sorgfältig zu vermeiden.

Wie man sieht, ist die Methode sehr einfach; auch habe ich in meinem mikroskopischen Curs die Beobachtung gemacht, dass die Studenten dieselbe sich leicht aneignen.

Ich werde im Folgenden stets die Färbung so beschreiben, wie sie sich bei Präparaten zeigt, die entweder in Alkohol oder in

Eosin-Alkohol gehärtet sind — Chromsäure-Präparate zeigen Abweichungen davon, die indess gewöhnlich nicht bedeutend, und an sich constant sind. Was das Anilingrün anbetrifft, so färbt dasselbe im Allgemeinen grün, wo die andern beiden blau färben, dies ist also zu ergänzen. Unter Umständen färbt es specifisch, und die Fälle werde ich bemerken.

Was nun die Vertheilung der Farben auf die einzelnen Gewebstheile anlangt, so kann man zunächst, was die Zellen anbetrifft, ganz im Allgemeinen sagen, dass die blauen resp. grünen Farbstoffe hauptsächlich die Kerne, dass das Eosin den Zellkörper färbt, wobei indess gleich hier hervorgehoben werden soll, dass in Bezug auf diesen letzteren sich mannigfache Farbennuancen, herbeigeführt durch Mischung der rothen mit den blauen Farbstoffen, erkennen lassen, augenscheinlich bedingt durch den sonstigen dem Protoplasma beigemischten Zellinhalt, oder auch die Veränderungen, welche das Protoplasma durch Alter erfährt. Was die Zellausscheidungsproducte anlangt, so weit sie vermöge ihrer schleimigen oder festen Consistenz sich auf mikroskopischen Schnitten erkennen lassen, so werden die ersteren im Allgemeinen mehr blau, die letzteren mehr roth, manchmal einfach eosinroth gefärbt. So erscheint der Inhalt der Becherzellen, sowohl wenn er in der Zelle noch enthalten, als auch, wenn er vorgequollen ist, intensiv blau, die Zwischensubstanz des hyalinen Knorpels leicht bläulich, so die Zellmembran eosinroth, die elastischen Fasern glänzend roth, die Bindegewebsfibrillen dunkelrosa, der Knochen intensiv scharlachroth. Eine sehr eigenthümliche und durchaus charakteristische Färbung zeigen die rothen Blutkörperchen, dieselben sind hellscharlachroth. Bei dem Blute niederer Wirbelthiere, welche Kerne in ihren Blutkörperchen haben, tritt diese Färbung gegenüber dem intensiv blauen Kerne noch mehr hervor¹⁾. Die Färbung ist so intensiv, dass Schnitte durch Organe, deren Blutgefäße noch mit Blutkörperchen gefärbt sind, ganz wie injicirt aussehen, so scharf hebt sich dieser Scharlach gegen alle sonstigen Farbtöne ab.

Was nun die einzelnen Organe anlangt, so ist darüber folgendes zu sagen.

1) Ich will hier gleich noch besonders hervorheben, dass man bei dem Blute von Säugethieren bei Anwendung der Doppelfärbung niemals auch nur eine Andeutung einer Kernfärbung in den rothen Blutkörperchen findet.

1. Haut.

Die Haut ist mit das dankbarste Object für unsere Färbung, sie liefert überraschend schöne Bilder. Die einzelnen Schichten der Epidermis, sowie diese im Ganzen gegen die Cutis heben sich sehr scharf ab. Auf die Epidermis werde ich in einer besonderen Arbeit zurückkommen. In der Cutis zeichnen sich die dunkelrosa gefärbten Fibrillenbündel des Bindegewebes prächtig scharf ab, so dass ihre Anordnung und Durchflechtung leicht zu erkennen ist. Gegen diesen rosa Untergrund heben sich die blauen Kerne der Bindegewebszellen, die Gefässe mit ihrem scharlachrothen Inhalt und ihrer Muskulatur, sowie die Schweissdrüsen mit ihren ziemlich stark blau gefärbten Zellen, auf deren dem Ausführungsgange zugekehrten Rande sich die feine rothe Cuticula erkennen lässt, ausserordentlich scharf ab.

Haare und Nägel werden gleichfalls sehr schön. Auch diese werde ich mit der Epidermis zusammen getrennt besprechen.

2. Muskelsystem.

Eignet sich nicht besonders für unsere Färbung, was die Details anlangt, dagegen hebt sich das Gewebe als solches gegen andere Gewebe sehr schön ab. Die glatten Muskeln zeichnen sich namentlich bei schwacher Färbung gegen das umliegende Bindegewebe aus, sie bleiben dann dunkeler roth, auch mit einem andern Farbentone, als die Bindegewebsbündel. Die quergestreiften Muskeln haben dann einen noch etwas dunkleren Farbenton.

3. Knochen und Knorpel.

Die Grundsubstanz des entkalkten Knochens wird intensiv scharlachroth, die Zellen mehr bläulich. Am meisten eignet sich unsere Methode für den Ossifikationsprocess. Hier zeigt sich nämlich die eigenthümliche Erscheinung, dass an der Stelle, wo die Knorpelzellennester liegen, die Zwischensubstanz des Knorpels, welche bis dahin einen bläulich röthlichen Farbenton hatte, ziemlich plötzlich eine intensiv blaue Farbe bekommt, welche also die charakteristische Färbung des verkalkten Knorpels sein würde. Die Knochengrundsubstanz erscheint, wie schon oben erwähnt, intensiv scharlachroth gefärbt und so hebt sich nun weiter nach dem Knochen hinein die aufgelagerte eigentliche Knochensubstanz

sehr schön von dem verkalkten Knorpel ab. Andererseits kann man dadurch den letzteren weit in den Knochen hinein verfolgen, da sich jede Spur desselben ohne Weiteres durch ihre blaue Färbung zu erkennen giebt. So kann man z. B. auf Querschnitten durch die Mitte der Tibia vom Neugeborenen sehr deutlich in der Mitte der Knochenbalken die Knorpelreste erkennen.

Der hyaline Knorpel giebt mit seiner bläulichen Grundsubstanz und den in diese eingelagerten röthlichen Zellen mit mehr blauen Kernen ein recht zierliches Bild. Das Perichondrium erscheint intensiv roth und hebt sich so scharf gegen den Knorpel ab. Sehr schön sieht man oft (z. B. am Trachealknorpel) die Einteilung der Grundsubstanz des Knorpels in einzelne Territorien, die Grenzpartieen sind fast schwarzblau. Elastischer Knorpel giebt ganz vorzügliche Bilder, namentlich an den Uebergangsstellen von hyalinem in elastischen Knorpel (z. B. *Cartilago arytaenoidea*). Die elastischen Fasern werden lebhaft roth und zeichnen sich so äusserst zierlich von der hellblauen Grundsubstanz ab.

4. Nervensystem.

Querschnitte durch das Rückenmark zeigen die gröbere Faserung recht gut, da die Nervenfasern, sowohl Mark wie Axencylinder, roth gefärbt sind, während das Neurogliaewebe blauröthlich mit dunkelblauen Kernen erscheint. Die Ganglienzellen sind röthlich mit einem schwachen Stich ins Blaue, während ihre Kerne ganz im Gegensatz zu den Kernen der sonstigen Zellen eher etwas röthlicher als der Zellkörper erscheinen. Das Kernkörperchen ist gewöhnlich intensiv dunkelroth.

Besonders zu empfehlen ist die Doppelfärbung für das Kleinhirn, um die Körnerschicht hervortreten zu lassen. Die Purkinjeschen Zellen bleiben ganz roth, sowohl Kern wie Zelle.

Für das periphere Nervensystem kann ich die Doppelfärbung im Allgemeinen nicht empfehlen. In einigen wenigen speciellen Fällen ist sie indess brauchbar. So treten z. B. die Nerven in der Froschblase sehr schön hervor. So färbt dann ferner das Methyl-Violett (nicht so die andern) die feinen Nerven in der Haut der Neunaugen sehr schön.

5. Darmkanal.

Wir kommen hier zu einem für unsere Methode sehr dankbaren Gebiete: den Drüsen. Es lassen sich nämlich einmal con-

stante Unterschiede in der Färbung verschiedener Drüsen auffinden und zweitens, bei manchen wenigstens, Unterschiede in der Färbung der Zellen derselben Drüse je nach ihren Zuständen. Ein sehr schönes Beispiel für den ersten Fall bieten die aquiraren und muciparen Drüsen an der Zungenwurzel. Die ersteren zeigen ein hellrothes Protoplasma mit schön blauen Kernen, die muciparen sind so intensiv blau gefärbt, dass man die Kerne oft nicht sieht. Beide Drüsenarten heben sich dann wieder prächtig gegen rothen Muskelgrund ab. Ein Beispiel für den zweiten Fall bietet die Gl. submaxill. und sublingualis. In dem sogenannten Ruhezustand sind die Zellen hier gleichmässig blau gefärbt, wenn auch nicht so intensiv wie die muciparen Drüsen am Zungengrunde, die noch dunkler blauen Kerne liegen, wie bekannt, wie plattgedrückt dicht an einem Rande. Im sogenannten Thätigkeitszustande sind die Zellen körnig röthlich gefärbt mit blauem rundem, in der Mitte liegendem Kerne. Die Halbmonde sind stets röthlich gefärbt. Die Parotis hat stets hellröthliche Zellen mit blauem Kern. Aehnlich das Pankreas, nur dass hier der Ton etwas mehr blau ist. Ganz besonders rothe Zellen hat eine Drüse, die allerdings nicht hieher gehört, die Thränendrüse.

Das Epithel der Mundhöhle, Zunge und des Oesophagus theilt sich auch durch die Färbung in eine obere und eine tiefere Schicht. Das Epithel und die Drüsen des Magens und Darms eignen sich für die Färbung ganz vorzüglich, ich werde sie gesondert besprechen.

Die Lymphdrüsen des Darms, welche sich sehr schön von der Umgebung abheben, werden wir mit den anderen Lymphwegen zusammen besprechen.

6. Leber.

Die Leber liefert recht brauchbare Bilder, namentlich, wenn die Capillaren noch voll Blutkörperchen sind.

7. Respirationsorgane.

Die Färbung der Trachea und des Kehlkopfs ist sehr schön, z. B. für einen Längsschnitt durch die Stimmbänder und die Seitenwand, wobei die verschiedenen Gewebe sich prächtig abheben. Das Epithel der Trachea erscheint gleichmässig rosa mit blauen Kernen, die Cilien ebenfalls rosa. Bei den Schleimdrüsen lassen sich wiederum sehr schön die thätigen von den ruhenden Zellen unterscheiden.

Für die Lunge sind die Resultate befriedigend. Die Muskulatur der Bronchien tritt scharf hervor. Das Epithel derselben sowie das der Lunge wird hell rosa mit blauen Kernen: eine wie es scheint allgemeine Farbe der nur als Decke dienenden Epithelien des Körperinnern.

Die blauen Farbstoffe ohne Eosin liefern hier übrigens auch schon recht hübsche Bilder.

8. Harnorgane.

Für die Unterscheidung der Epithelien der einzelnen Abtheilungen der Nierenkanälchen bietet unsere Methode nichts besonderes. Die Zellen sind sämmtlich roth mit blauen Kernen, nur erscheinen die Zellen der gewundenen Kanälchen besonders intensiv dunkelroth.

In den Ureteren und der Harnblase hat das Epithel wiederum die Farbe des einfachen Deckepithels: rosa mit blauen Kernen. Die Schichten zeigen keinen Unterschied.

Ausserordentlich schöne Bilder liefert die Harnblase der Amphibien. Hier treten auch die Nervenetze: blassroth mit blauen Kernen, deutlich hervor.

9. Männliche Geschlechtsorgane.

Für den Hoden erscheint die Doppelfärbung sehr brauchbar. Sowohl die Stützzellen, wie die Spermatoblasten treten mit rosa Protoplasma und blauen Kernen deutlich hervor. Bei denjenigen der Spermatoblasten ist die gröbere Körnung ausgezeichnet deutlich.

Die Spermatozoen färben sich ebenfalls sehr scharf: der Kopf wird blau, von mittlerer Farbenintensität, das Mittelstück und der Schwanz werden gleichmässig rosa. Sehr eigenthümlich ist, dass der hinterste Theil des Kopfs, da wo derselbe an das Mittelstück stösst, regelmässig viel dunkler blau gefärbt ist als der übrige Kopf. Ich glaube nicht, dass diese Erscheinung auf eine besondere Lichtbrechung an dieser Stelle zurückzuführen ist, obwohl man hieran ja bei der starken Krümmung der Kopfflächen an dieser Stelle auch denken könnte. Der Färbung nach würde also der Kopf der Spermatozoen einem Kern, und das Mittelstück nebst Schwanz dem Protoplasma resp. der Flimmercilie einer Zelle entsprechen. Es ist diese Färbung jedenfalls bemerkenswerth, wenngleich man darauf noch keine sicheren Folgerungen bauen kann.

Auch die Häute des Hodens geben sehr zierliche Bilder.

Sehr hübsche Präparate ergibt auch die Prostata.. Das Drüsenepithel ist hier schön roth mit dunkelblauem Kerne. Die Concremente sind leuchtend dunkel scharlachroth gefärbt. Muskeln wie sonst beschrieben.

10. Weibliche Geschlechtsorgane.

Ovarien, Uterus und Tuben, Vagina, Mammae geben sämmtlich sehr schöne und zierliche Bilder. Das Epithel des Corpus uteri und der Uterindrüsen ist wieder rosa mit einem leicht bläulichen Ton und mit blauen Kernen.

11. Blutgefässe.

Bei den mittleren und grossen Blutgefässen tritt die Schichtung der Wandung durch Färbung der Muskulatur und der elastischen Lagen recht gut hervor.

12. Die sogenannten Blutgefässdrüsen sowie die Lymphdrüsen geben sämmtlich ganz ausgezeichnete Bilder. Dieselben werden seit einiger Zeit im hiesigen Institute einer besonderen Bearbeitung unterzogen, weshalb ich hier nicht näher darauf eingehe.

13. Von den Sinnesorganen habe ich zu bemerken, dass eine Doppelfärbung bei den Nervenendigungen in der Haut keine guten Bilder giebt; wenigstens bei den Säugethieren. Bei manchen niederen Wirbelthierklassen hat Prof. Merkel dagegen recht schöne Bilder erhalten. Ebenso wenig genügt die Färbung der Geschmacksgorgane.

Beim Auge geben die äussern Theile natürlich, wie nach dem vorhergehenden zu schliessen, recht brauchbare Bilder. Sehr schön tritt auch der Musc. ciliaris hervor (namentlich bei Anwendung von Anilingrün). Die Retina giebt ein schönes Schichtenbild, ohne indess Besonderes zu bieten.

Gehör- und Geruchsorgan habe ich nicht untersucht.

2. Ueber eine neue Färbungsmethode des Centralnervensystems.

In seinem Handbuch der Anatomie des Menschen theilt Henle in der Vorrede zu der Nervenlehre eine von Merkel angegebene Methode der Färbung des Centralnervensystems mit, welche darin besteht, dass man die betreffenden Schnitte zuerst 1—2 Minuten in Palladiumchlorür von 1:300—600 und dann nach Auswaschen in eine Gerlach-Clarke'sche Carminlösung legt. Bei meinen Untersuchungen fand ich nun, dass ein in letzter Zeit hier von Herrn Dr. Witte hergestellter und Prof. Dr. Merkel zu Versuchen

übergebener Farbstoff bei dieser Methode noch weit schönere Bilder giebt als die oben genannte Carminlösung. Es ist dieser das pikrokarminsäure Natron. Die Färbung ist sehr prägnant: die Ganglienzellen und die Axencylinder werden intensiv roth, während das Nervenmark stark gelb wird, und zwar ist das Roth ein sehr angenehmes sanftes Carminroth, und das Gelb dasjenige der Pikrinsäure. Gewöhnliches Pikrokarmin giebt lange nicht so schöne Bilder.

Was die Methode anlangt, so wendet man am besten kalt gesättigte Lösungen des pikrokarminsäuren Natrons an, da dasselbe im Ganzen nur schwach färbt. Nachdem man das Präparat etwa 1—2 Minuten in der oben erwähnten Palladiumchlorürlösung liegen gelassen und dann abgespült hat, lässt man es in der Farbstofflösung etwa 8—10 Minuten verweilen. Dann Lackeinschluss. Allerdings tritt auch bei dieser Methode wie bei der zuerst angegebenen später häufig ein Nachdunkeln der Palladiumfärbung ein, wodurch die Präparate leiden.

Unser Farbstoff ist ferner sehr geeignet um isolirte Ganglienzellen zu färben, und zwar am besten nach Anwendung von Ranvier's Alkohol. Ich kann mich, wenigstens was das Centralnervensystem anlangt, nur den Angaben von Ranvier anschliessen; sein Alkohol hat mir bessere Dienste geleistet als die von Deiters empfohlenen Macerationslösungen und als die jüngst von Eichhorst im Centralblatt empfohlene Carbolsäure. Wenn man in eine mässige Menge (soviel dass die Präparate grade bequem darin liegen können) des Ranvier'schen Alkohols frisches Rückenmark vom Kalb oder Rind in Stücke von etwa $\frac{1}{2}$ ctm. Dicke geschnitten einlegt und in einem gut verschlossenen Glase darin einige Tage liegen lässt, kann man nachher, wenn man kleine Stücke der grauen Substanz in wenig Wasser in einem Reagenzglase schüttelt, ganz vorzügliche isolirte Ganglienzellen erhalten. Wenn man annehmen kann, dass des Schüttelns genug sei, setzt man dem Wasser im Reagenzglase etwas Glycerin zu und einige Tropfen der concentrirten Lösung des pikrokarminsäuren Natrons. Sodann lässt man das Reagenzglas ruhig ein bis zwei Tage stehen. Nach dieser Zeit haben sich die Ganglienzellen vermöge ihres grösseren specif. Gewichts entweder auf den Boden des Glases gesenkt oder befinden sich doch in den tieferen Flüssigkeitsschichten. Was oben schwimmt sind gewöhnlich nur Bindegewebsfetzen, in denen aller-

dings auch hin und wieder noch Ganglienzellen sitzen können. Im Allgemeinen kann man um diese Zeit den obern Theil der Flüssigkeit abgiessen, ohne dass viel verloren geht. Ist noch viel Flüssigkeit übrig geblieben, wiederholt man die Procedur nach einiger Zeit. Den übrigen geringen Rest von verdünntem roth gefärbtem Glycerin mit den Zellen und Gewebsfetzen schüttet man dann in ein kleines Uhrsälchen, setzt noch ein paar Tropfen Glycerin zu und stellt dann dasselbe in einen Schwefelsäuretrockengerät. Nach zwei Tagen ist gewöhnlich schon das sämmtliche Wasser verdunstet, und die Gewebsfetzen und Zellen liegen nun intensiv gefärbt in ziemlich wasserfreiem Glycerin, in dem man sie beliebig lange aufbewahren kann. Allmählich scheint übrigens der Farbstoff mehr und mehr an die Gewebselemente heranzutreten, denn die Flüssigkeit entfärbt sich gewöhnlich fast ganz. In dem Uhrsälchen sieht man nun unter dem Mikroskope die schönsten Ganglienzellen intensiv roth gefärbt und dadurch leicht unter den Bindegewebsetzen aufzufinden, welche letztere gewöhnlich nur schwach gefärbt erscheinen. Die Ganglienzellen selbst nun unter dem Präparirmikroskope mit der Nadel herauszufischen und auf den Objectträger überzuführen, ist unpraktisch, da die zahlreichen Fortsätze sich dann fast immer umschlagen, besser thut man, einen Tropfen der Flüssigkeit, in dem immer einige Zellen zu sein pflegen, auf den Objectträger zu bringen und dann unter dem Präparirmikroskope die unnützen Bindegewebsetzen mit der Nadel zu entfernen, möglichst ohne die Zellen zu berühren. Es ist überraschend, wie viel leichter sich die Ganglienzellen nach der Färbung auffinden und in Folge dessen auch isoliren lassen und wie viel mehr man sieht. Die grossen Zellen kann man mit blossem Auge ganz gut erkennen. Da indessen jede auch noch so sorgfältige Uebertragung die Ganglienzellen immer etwas schädigt, so eignen sich zur Beobachtung derselben am besten planconcave Glasschälchen, wie man sie häufig als Beigabe älterer Mikroskope findet. Allerdings kann man hierbei nur schwächere Systeme anwenden. Da sich die Zellen in dem Glycerin beliebig lange halten, so eignet sich diese Methode ferner sehr gut um einen Vorrath für Curse anzulegen.

Sonst ist das pikrokarminsäure Natron nach meinen Erfahrungen nicht geeignet das Pikrokarmin zu ersetzen, da es eine zu schwache Färbekraft besitzt.