Mikrotechnische Mittheilungen.

II. Ein von R. Jung gebautes Mikrotom und seine Verwendung in der Pflanzenanatomie.

Von

Ludwig Koch.

Mit einem Holzschnitt.

In der mechanischen Werkstätte des Herrn R. Jung in Heidelberg wird in neuester Zeit ein im Wesentlichen dem „Cambridge rocking microtome“ [1]) nachgebildetes in Einzelheiten verbessertes Mikrotom gebaut, über das sich Schiefferdecker [2]) sehr anerkennend ausspricht. Es wird angegeben, dass besonders die pathologischen Anatomen dieses Instrument in den bei weitem meisten Fällen mit Vortheil gebrauchen können. Zweck des vorliegenden Aufsatzes ist es zu prüfen, ob und inwieweit das Mikrotom auch auf pflanzenanatomischem Gebiet Verwendung finden kann. Mit einer Beschreibung des Instrumentes möge begonnen werden.

Auf einem massiven Untergestell erheben sich zwei Träger (G), in denen die Achse A lagert. Um diese dreht sich ein Hebel (B), dem die Führung des Objecthalters zufällt. Dieser Führungshebel wird durch eine starke Spiralfeder nach unten gezogen, er liegt der Schraubenmutter M auf, die durch die Mikrometerschraube Sch gehoben werden kann.

Ein dem Führungshebel paralleler zweiter Hebel (C) vermittelt die Bewegung des Objecthalters in vertikaler Richtung. Dieser Be-

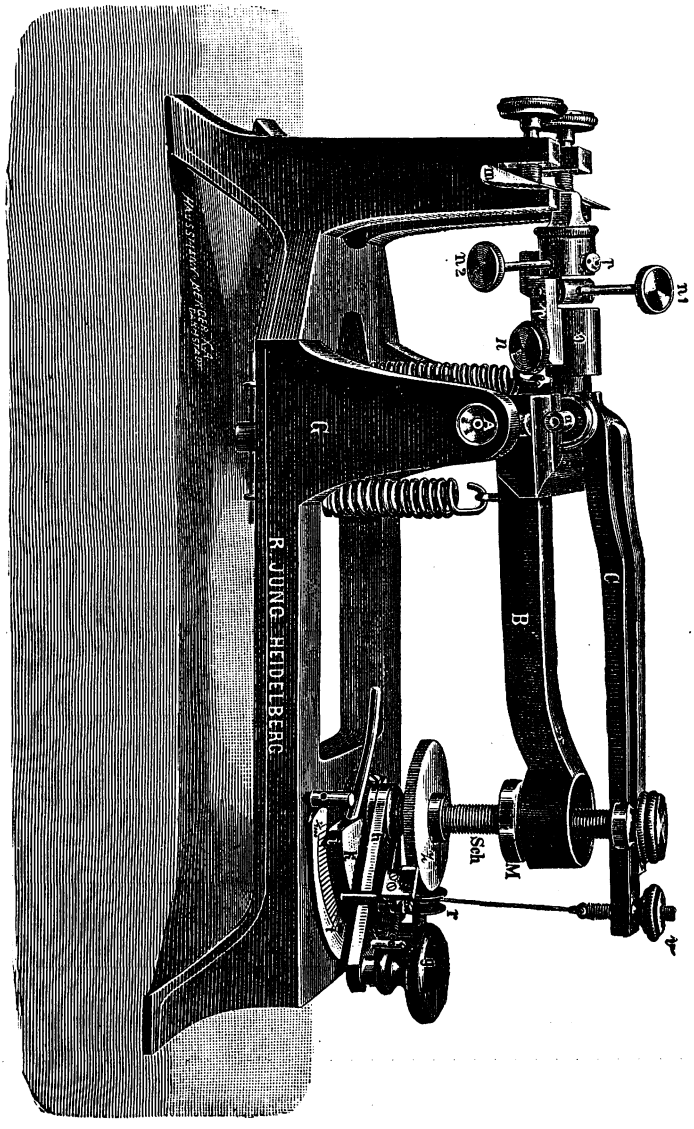
1) Beschrieben im Journal of the Royal Mikroscopical Society Ser. II, vol. V, 1885, pag. 550.

2) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik Bd. IX, 1892, pag. 168.

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00331-4

wegungshebel dreht sich um eine Achse (a), die in einem rechtwinklichen Einschnitt des Führungshebels — über dessen Achse A — lagert. Der Bewegungshebel trägt an seinem kürzeren dem Messer



Hebelmikrotom, gebaut in der Werkstätte des Herrn R. Jung in Heidelberg.

genäherten Arm den Objecthalter (bei p). Letzterer wird bei dem Niederdrücken des Führungshebels in Folge einer leichten Drehung um die Achse A von dem Messer ab-, bei entgegengesetzter Bewegung aber nach dem Messer hingeschoben.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00332-0

Beide Hebel sind durch einen horizontal spielenden dritten (h), der am Fusse des Instrumentes angebracht ist, in Gang zu setzen. Bewegt man den Knopf (g) des Horizontalhebels von der Anschlagstelle nach einem Haltestift, so wird der Bewegungshebel durch eine bei v angreifende, über eine Führungsrolle laufende Darmsaite nach unten gezogen. Der kürzere den Objecthalter tragende Hebelarm geht in die Höhe. Zu gleicher Zeit erfolgt aber auch die Verschiebung des Führungs- und damit auch des Bewegungshebels sammt Objecthalter. Dies geschieht durch folgende mechanische Vorrichtung.

Auf den Horizontalhebel ist ein beweglicher durch eine kleine Spiralfeder zurückgehaltener Sperrkegel geschraubt, der in ein an der Mikrometerschraube sitzendes Zahnrad (Z) einzugreifen vermag. Ein darunter angebrachtes Kreissegment (k) mit Griff lässt sich so stellen, dass das Eingreifen früher oder später erfolgt und demgemäss die Schraubenmutter M und mit ihr der Führungshebel mehr oder weniger gehoben, der Objecthalter somit dem Messer dementsprechend genähert wird. Das Zahnrad hat 250 Zähne. Eine Bewegung der Schraube um einen Zahn entspricht einer Schnittdicke von $^1/_{2000}$ mm. Die an der verstellbaren die Schnittdicke bestimmenden Scheibe angebrachte Eintheilung geht von 1—25 μ.

Mit der Führung des Horizontalhebels von der Anschlagstelle nach dem Haltestift wird nicht nur der Objecthalter gehoben und gleichzeitig um eine bestimmte durch die Einstellung der Scheibe gegebene Grösse vorgeschoben, sondern auch eine in der Nähe der Träger G befindliche Spiralfeder gespannt, die an dem kurzen Arm des Bewegungshebels angebracht ist. Lässt man den Knopf des Horizontalhebels frei, so zieht die Feder den Hebelarm sammt Objecthalter nach unten. Der das zu schneidende Object enthaltende Paraffinblock — das Mikrotom eignet sich überhaupt nur zum Bearbeiten von Paraffinmaterial — wird in flachem Bogen gegen und über das Messer geführt, es entsteht ein Schnitt. Nur die erste Bewegung des den Mechanismus in Gang setzenden Hebels erfordert einen gewissen Kraftaufwand. Alsdann, während der Schnitt entsteht, schlägt der Hebel von selbst zurück. Will man, was sich bei besonders schwierigen Objecten manchmal empfiehlt, beim Schneiden nicht die volle Federkraft wirken lassen, so kann diese durch entsprechendes Zurückhalten des Hebelknopfes beliebig gemildert werden. Hat man, wie das zumeist der Fall ist, nicht nöthig hierauf zu achten, so vollzieht sich das Schneiden den Mikrotomen gegenüber, bei denen der Messerschlitten mit der Hand bewegt wird, mit einer ganz ausser-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00333-6

ordentlichen Schnelligkeit und, wie auch schon hier erwähnt werden soll, Genauigkeit. In Bezug auf letztere und besonders bei sehr dünnem Schneiden steht die Führung des Messerschlittens mit der Hand stets der mechanischen bedeutend nach.

Zwei am Kopfe des Instrumentes angebrachte Pfeiler tragen das im Querschnitt die Form eines gleichschenkligen Dreiecks besitzende Messer (m). Dieses wird in ein Lager geschoben und durch zwei Schrauben so gegen ein Lederpolster gepresst, dass seine dem Objecthalter zugekehrte Seite eine vertikale oder etwas gegen den Halter geneigte Fläche bildet.

Ausser dem für das Mikrotom speciell angefertigten und mit dem zum Abziehen nothwendigen Stiel versehenen Messer lassen sich auch gewöhnliche Rasirmesser — sie dürfen in Folge des Schliffes nicht federn — benützen. Ein englisches Messer, das sich nach meiner Erfahrungen sehr gut und für manche Zwecke sogar noch besser als das speciell angefertigte eignet, kann ebenfalls von Herrn Jung bezogen werden.

Für die Orientirung des Objectes ist eine Vorrichtung vortheilhaft mit der in neuester Zeit die Jung'schen Mikrotome versehen werden Die Darmsaite, welche den Bewegungshebel anzieht, ist nicht an eine festsitzenden Schraube (v), sondern an einem auf dem langen Arm des Bewegungshebels verschiebbaren und durch Schrauben festzustellenden Metallklotz befestigt, sie läuft nach diesem hin in eine zweiten bei v angebrachten Führungsrolle. Somit hat man es in der Hand, den Bewegungshebel in seinem Tiefgang beliebig zu beschränken.

Der Objecthalter macht den kurzen Arm des Bewegungshebel aus. Auf einen cylindrischen Ansatz des letzteren lässt er sich auf stecken (bei o) und sowohl in horizontaler Richtung verschieben, als auch um seine eigene Achse drehen. Die Horizontalverschiebung ist eine Art grobe Einstellung, durch die das Object dem Messer thun lichst nahe gebracht wird; es lässt sich die feine unter Benützung des Kopfes der Mikrometerschraube vornehmen. Durch die Drehung um die Achse kann dem Object der Messerschneide gegenüber eine bestimmte Lage gegeben werden. Die Bewegbarkeit endlich um zwei weitere Achsen gestattet, das Object in den hier vorzugsweise in Betracht kommenden Richtungen zu orientiren. Die Fixirung übernehmen die Schrauben n—n_2.

Zum Befestigen der eingeschmolzenen Objecte bedient man sich kleiner gerifter Platten oder Näpfchen, von denen jedem Instrumen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00334-2

ine Anzahl beigegeben werden. Ich habe ausschliesslich die letzteren enützt und finde sie, im Hinblick auf einen schnellen Wechsel des u bearbeitenden Materials, besonders dann recht bequem, wenn man us ihnen einen etwa 1 cm hohen Paraffinblock hervorragen lässt, dem lann mittelst heissem Draht die kleinen, das Object enthaltenden Paraffinstückchen aufgeschmolzen werden. Derartige Paraffinblöcke ind leicht durch Einzwängen oder Einsetzen in flüssiges Paraffin in lem Näpfchen zu befestigen.

Nachdem das Paraffin genügend erhärtet ist, kann mit dem Schneiden begonnen werden.

Zuvor dreht man die Mikrometerschraube so zurück, dass die Schraubenmutter, auf welcher der Führungshebel lagert (M), den tiefsten Stand erhält. Der Objecthalter ist dann am weitesten von dem Messer ntfernt. Dann legt man den Horizontalhebel vermittelst einer in der Nähe seines Knopfes angebrachten Fixirvorrichtung an den Haltestift est. Der Objecthalter nimmt jetzt seine höchste Stellung ein. Das mit lem zu schneidenden Object versehene Näpfchen wird in ihn eingeschraubt und der Objecthalter auf seinen cylindrischen Ansatz so urückgesetzt, dass das Object enthaltende Paraffinstückchen beim Niedergang des Hebels das Messer noch nicht berührt. Man schneidet nun das Paraffinstückchen durch zwei Parallelschnitte so zurecht, dass lie entstehenden Kanten mit der Messerschneide parallel verlaufen. Dann lässt man durch Freigeben des fixirten Knopfes den Bewegungsiebel nieder und beschränkt ihn unter Versetzen des auf ihm laufenden Metallklotzes derart in seinem Gang, dass die obere Kante des zu schneidenden Paraffinstückchens bei tiefstem Stand des Objectträgers sich etwas unter der Messerschneide befindet.

In einer derartigen Lage hat man an der Messerfläche einigen Anhalt für die Orientirung des zu schneidenden Pflanzentheils. Unter Benützung der Drehungsvorrichtungen in den beiden Ebenen wird lieser in die geeignete Lage gebracht. Um sich von einer solchen, nsoweit sie an dem durchscheinenden Object zu verfolgen ist, überzeugen zu können, erweist es sich oft zweckmässig, das Object durch geeignete Hebelführung über die Messerschneide zu heben und hier von vornen und von der Seite zu betrachten. Will man, um dies mit Ruhe thun zu können, den Hebel zeitweilig fixiren, so leistet hierbei ler auf dem Bewegungshebel versetzbare Metallklotz gute Dienste. Der Hebel lässt sich in jeder Lage stellen.

Schliesslich erfolge die Fixirung des Objectes durch die Schrauben n_1—n_2.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00335-8

Im Vergleich mit den Objecthaltern anderer Mikrotome und besonders den complicirteren theueren, muss die Einstellvorrichtung an unserem Instrument als eine recht einfache bezeichnet werden. Dessenungeachtet reicht man mit ihr, wie wir noch sehen werden, in der Mehrzahl der Fälle nicht nur vollständig aus, es erweist sich sogar hier, wo die Orientirung des Objectes im Grossen und Ganzen weniger bequem auszuführen ist als bei der Einspannung in Mikrotome mit horizontalem Messer, das Vermeiden aller nicht unumgänglich nothwendigen Schrauben und Zahnräder von Vortheil.

Dass das Object die geeignete Lage zur Messerschneide hat, die ihm schon gelegentlich des Beschneidens des Paraffins durch geeignete Drehung des Objecthalters an dem Ansatz zu geben ist, wurde vorausgesetzt. Die Lage ist keineswegs gleichgültig. Im Allgemeinen lässt sich als Regel aufstellen, dass aus Gründen, denen wir noch näher zutreten haben, Objecte mit ungleich grossen Achsen so zu orientiren sind, dass die kleinere senkrecht, die grössere parallel zur Messerschneide verläuft.

Mit Abschluss der Orientirung werde der Objectträger auf den Metallansatz möglichst nahe an das Messer geschoben und fixirt. Dann lasse man die Hebel so spielen, dass die demnächstige Schnittfläche knapp über die Messerschneide gehoben und wieder gesenkt wird. Bei dieser Gelegenheit werde unter Benützung des Knopfes der Mikrometerschraube das Object langsam und zwar so gegen das Messer vorgeschoben, dass dieses noch nicht anschneidet, ein Anschneiden aber alsbald zu erwarten ist. Eine zu ausgiebige Benützung der Schraube, die dazu führen könnte, dass man während des Schneidens eine Serie abbrechen und die Schraube zurückdrehen muss, ist, wie das leicht bei richtiger Handhabung der oben als die grobe bezeichneten Einstellung geschehen kann, zu vermeiden.

Nun schreite man zur Wahl der Schnittdicke. Abhängig ist eine solche einerseits von der Zellgrösse des zu schneidenden Pflanzentheils, anderseits von dessen Festigkeitsverhältsverhältnissen, sei es nun, dass diese durch gewisse Zellformen, sei es, dass sie durch die Einwirkung der beim Einbetten verwendeten Substanzen bedingt sind. In Bezug auf ersteren Punkt ist zu erwähnen, dass grosszellige Objecte bei sehr dünnem Schneiden leicht zerreissen. Man erhält Theilstücke, welche anatomische Einzelheiten — wie die Gefässbündel — recht gut geben, ein Uebersichtsbild aber natürlich nicht ersetzen können. Ein ähnlicher Gewebeausfall ist aber auch nicht selten für festere Pflanzentheile, bei denen ein recht dünnes Schneiden oft

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00336-4

rwünscht wäre, zu beklagen. Geht man anderseits hier über die geignete Schnittdicke hinaus, so rollen sich die Schnitte leicht. Die Herstellung eines Schnittbandes wird vereitelt. In dieser Hinsicht das Richtige zu treffen, ist Sache der Uebung. Auf die Herstellung von Schnittbändern wird man aber bei unserem Mikrotom im Grossen und Ganzen nicht verzichten wollen und zwar der Unbequemlichkeit der Abnahme von Einzelschnitten halber auch in den Fällen, in denen auf die Anfertigung einer vollständigen Serie kein Werth gelegt wird.

Sollte Neigung zum Rollen vorhanden sein, so ist dieser bei der Herstellung schon des ersten Schnittes durch geeignete Handhabung einer gekrümmten Nadel an der Messerschneide entgegenzutreten. Ist das Band einmal angefangen, so hat man ein weiteres Eingreifen meist nicht mehr nöthig. Ferner wird das Rollen auch häufig durch Abwischen des Messers mittelst eines mit absolutem Alkohol befeuchteten Tuches verhindert. Es ist das Anhaften von Paraffin an dem betreffenden Theile des Messers stets zu verhüten.

Auf weitere Einzelheiten kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Sind Object und Schnittdicke die für den betreffenden Fall angezeigten, so hat man während des Schneidens höchstens noch darauf zu achten, dass sich das Schnittband nicht am Messerrücken staucht, dass es vertical hinabgleitet. Sehr bequem und für grössere Serien oft unentbehrlich ist eine auf Bestellung an dem Mikrotom angebrachte Vorrichtung, welche den Zweck hat, den „Bandwurm" dem Messer abzunehmen und gut zu erhalten. Diese Vorrichtung besteht aus einem endlosen Band, das auf Rollen an einer langen, horizontal an den Messerträgern befestigten Stange läuft. Das Band wird durch die nahe dem Messer angebrachte Rolle bewegt, in die ein Zahnrad eingreift, das seinerseits von einem Hebel gedreht wird, der an der Bodenplatte befestigt ist. Dieser Hebel liegt zwischen den Trägern G, es sitzt ihm eine verstellbare Stange auf, die an dem Bewegungshebel C anstösst.[1]) Je nach der Einstellung erfolgt der Stoss früher oder später. Der Bandhebel wird stärker oder schwächer hinabgedrückt und Zahnrad sowie Kette dementsprechend gedreht. Die hievon abhängige Schnelligkeit der Bewegung des endlosen Bandes muss, was nach wenigen Versuchen leicht gelingt, in Uebereinstimmung mit der

1) Augenblicklich arbeitet Herr Jung an einer mechanischen Verbesserung dieser Construction, auf die näher einzugehen ich mir hier versagen muss. Ich verweise daher auf den später erscheinenden Katalog.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00337-9

Schnittgrösse gebracht werden. Ist dies geschehen, so nimmt das unter dem Messerrücken laufende Band diesem den „Bandwurm“ sofort ab und führt ihn, ohne ihn zu zerreissen, bis zum anderen Ende der Stange.

Nun muss mit dem Schneiden eingehalten werden. Das ebenso bequem wie sicher liegende Schnittband wird jetzt mittelst einer kleinen, spitzen Scheere in Theilstücke zerlegt, deren Länge von der Grösse der mit dem Klebemittel bestrichenen Fläche des Objectträgers abhängt. Zur Uebertragung bediene man sich einer Pincette. Das Auflegen werde langsam derart vorgenommen, dass an dem Theilstück ein Schnitt nach dem andern aufklebt. Schwache, manchmal nicht zu vermeidende Falten des Bandes lassen sich, zumal wenn man dieses vorsichtig anzieht, oft hierdurch beseitigen.

Bei dem überaus reichen Schnittmaterial wird man meist nicht alle Schnitte, sondern nur denjenigen Theil aufkleben, der für die Untersuchung das meiste Interesse hat. Bei einiger Uebung lässt sich schon durch die Beobachtung mit der Lupe das Ungeeignete aussondern. Für Längsschnittserien durch den Vegetationspunkt beispielsweise, geben die zunächst geschnittenen Blätter Anhaltspunkte in dieser Richtung. Später, mit dem Anschneiden der Achse, wird die Prüfung mikroskopisch vorgenommen werden müssen. Einzelne Glieder des „Bandwurms“ sind in Terpentinöl zu untersuchen. Man gehe auf diese Weise vorsichtig bis zu demjenigen Schnitt vor, der den Beginn der Serie als wünschenswerth erscheinen lässt und verfährt dann wie oben angegeben wurde.

Wird, wie das beim Querschneiden jugendlicher Pflanzentheile oft zutrifft, auf die Herstellung einer derartigen Serie kein Werth gelegt, so ist es doch oft erwünscht, die Schnitte in bestimmten Abständen zur eingehenden Untersuchung aufzubewahren. Man nehme dann den 5., 10. oder 15. Schnitt aus dem Bande heraus. Je nach Bedürfniss — wenn in Hinblick auf den Bau bestimmter Stellen des Pflanzentheils (Insertionsstellen der Blätter) ein eingehenderes Studium angezeigt ist — kann dieses Verhältniss beliebig geändert oder auch wohl gar zu einer geschlossenen Serie (Scheitel des Vegetationspunktes) übergegangen werden.

Wird mit dem Schneiden des in Bearbeitung befindlichen Objectes längere Zeit eingehalten, so kommt es, so Vorzügliches das Mikrotom sonst leistet, doch vor, dass der erste Schnitt missräth. Wo auf diesen Werth gelegt wird, hat man somit die Prüfung und das Aufkleben des Schnittmaterials zu beschleunigen. Zweckmässig ist es

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00338-5

auch, das Schneiden nach Entnahme nur eines Theils des „Bandwurms“ von dem endlosen Band fortzusetzen.

Muss das Arbeiten unterbrochen werden, weil die Mutter der Mikrometerschraube den höchsten Stand erreicht hat, so ist dies noch unangenehmer. Das Zurückdrehen der Schraube und die Versetzung des Objecthalters bedingen, wird beides nicht mit grösster Vorsicht vorgenommen, ebenfalls leicht Schnittverlust. Bei der beträchtlichen Ganghöhe der Schraube wird, verfährt man gleich beim ersten Einstellen mit der nöthigen Vorsicht, ein Herabschrauben allerdings nur selten, bei äusserst umfangreichen Serien, nothwendig sein. In diesen wenigen Fällen schreite man schon früher, zu einer Zeit zu dem Zurückdrehen, in der im Hinblick auf die betreffende Stelle des Objectes das Ausfallen eines Schnittes von verhältnissmässig geringer Bedeutung ist.

Der Bau des Instrumentes bedingt, dass das Object in flachem Bogen gegen und über das Messer geführt wird. Die Schnitte sind somit nicht eben, sondern Theile eines Cylindermantels. Da dessen Radius, wie sich aus der Entfernung der Achse des Bewegungshebels von dem Messer ergibt, kein sehr bedeutender ist, so kann die Abweichung von der planen Ebene nicht so ohne Weiteres vernachlässigt werden. Wir haben somit in dem zweiten Theile dieses Aufsatzes zu prüfen, inwieweit ein derartiger Fehler von praktischer Bedeutung ist. Da derselbe mit zunehmender Grösse der Schnittfläche sich bemerkbarer machen muss, so wird festzustellen sein, wie weit man in Bezug auf eine solche gehen darf. Das Schneiden in gekrümmter Ebene läuft auf schiefes Schneiden bestimmter Stellen der zu bearbeitenden Pflanzentheile hinaus. Diesem gegenüber sind aber kleine, polygonale Zellformen, und besonders stark verdickte mit Membrandifferenzirung, empfindlicher, als grosszellige runde und der Differenzirung entbehrende. Der histologische Bau ist somit hier ebenfalls zu berücksichtigen. Ferner kommt die Orientirung des Objectes dem Messer gegenüber in Betracht. Eine Längsschnittserie durch die Sprossspitze beispielsweise, die bei verticaler Lage des Objectes ganz oder zum Theil unbrauchbare Bilder liefern würde, kann bei horizontaler, zum mindesten in Bezug auf die Achse selbst, auf die es vorzugsweise ankommt, durchaus befriedigend ausfallen. Aehnlich verhält es sich mit dünnen und langen Blattausschnitten, die natürlich mit der langen Kante parallel zur Messerschneide gerichtet werden müssen.

Weitere Details sind in dem zweiten Theile dieses Aufsatzes zu geben. Daselbst wird auch unter Bezugnahme auf das verschieden-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00339-3

artigste Material die jeweilig geeignete Schnittdicke, die ja nach dem schon Gesagten für den Ausfall der Schnittserie entscheidend sein kann, festzustellen und vor allem auch zu untersuchen sein, inwieweit man verhältnissmässig feste Pflanzentheile erfolgreich mit dem beschriebenen Mikrotom zu verarbeiten im Stande ist.

Das untersuchte Pflanzenmaterial.

I. Querschnitte und Querschnittserien.

Weiche Stammtheile.

1. Phlox paniculata L. Sprossspitze.

Für die sichere Orientirung des Objectes — dasselbe war 1 cm lang — genügt der einfache Objecthalter vollständig. Mit dem Schneiden wurde an basalen Theilen begonnen und von hier nach dem Scheitel des Vegetationspunktes fortgefahren. Bei der Kleinzelligkeit des Objectes ist sehr dünnes Schneiden angezeigt. Hierbei stellte sich heraus, dass das Instrument bei scharfem Messer und richtigem Härteverhältniss des Paraffins zur Lufttemperatur noch die Entnahme von Schnitten von 1 μ mit ziemlicher Sicherheit gestattet. Nur verhältnissmässig selten fand ein Schnittausfall, eingeleitet durch starkes Fälteln, wozu derartig dünne Schnitte überhaupt Neigung zeigen, statt. Das histologische Bild war in Bezug auf einzelne Details, wie Gefässbündel etc., vorzüglich, als Uebersichtsbild indessen nicht zu verwenden, weil bei so dünnem Schneiden fast stets ein Gewebeausfall stattfindet. Bei der Einstellung auf 2 μ ist dieser sowohl wie das Faltenschlagen vermieden. Das Instrument arbeitet alsdann mit einer erstaunlichen Sicherheit. Ein Schnittausfall ist bei nur einiger Aufmerksamkeit nicht zu beklagen. Die Schnittbänder sind tadellos. Das Object wird in kürzester Zeit in Einzelschnitte zerlegt.

Auch bei einer Schnittdicke bis zu 5 μ — die Bilder sind hier ebenfalls ganz vorzügliche — ist das Mikrotom in seiner Leistungsfähigkeit noch nicht beeinträchtigt. Darüber hinaus (10—15 μ) tritt Abnahme einer solchen insofern ein, als die Einzelschnitte sich mehr und mehr zu rollen beginnen. Dies liegt — Paraffinklötze ohne Object zeigen die Erscheinung nicht — an letzterem und dürfte in Spannungen der ausgetrockneten Pflanzentheile, die sich mit zunehmender Schnittdicke bemerkbarer machen, begründet sein.

Mit der Neigung zum Rollen wird die Herstellung eines Schnittbandes gefährdet, wenn nicht gar unmöglich gemacht. Wo es auf ein solches ankommt, leistet unter Umständen das Reinigen des Messers

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00340-4

mit absolutem Alkohol, vor allem aber das Befeuchten der Schnittfläche des Objectes, gute Dienste. Ein aufgegebener, vor dem Schneiden wieder zu beseitigender Wassertropfen bewirkt nicht selten, dass das Rollen wenigstens für gewisse Strecken des Objectes vollständig aufhört.

Dass die Schnitte keine planen sein können, geht aus dem schon früher Gesagten hervor. Bei einer Schnittfläche des Objectes, die, wie die vorliegende, nicht wesentlich mehr wie 1 qmm beträgt, macht sich indessen, wie die directe Beobachtung unter dem Mikroskop ergibt, ein derartiger Fehler so gut wie nicht bemerkbar.

Der oben besprochenen Pflanze in jeder Hinsicht ähnlich verhalten sich Tamus communis L. und Lysimachia ciliata L.

Gehen wir jetzt zu Stammtheilen über, die tiefer, etwa 2—5 cm unter dem Vegetationspunkte der Pflanze, entnommen wurden.

2. Vitis vinifera L.

Die für das Object geeignetste Schnittdicke ist 5 μ. Ohne dass ein Gewebeausfall stattfindet, kann man indessen auch bis zu 3 μ herabgehen. In einem wie im anderen Falle erhält man tadellose Schnittbänder. Dicke Schnitte (15—20 μ) zeigen hier weniger Neigung zum Rollen.

Das gleiche gilt von Strobilanthes Sabiniana Nees und Hippuris vulgaris L. Von letzterer Pflanze haben Schnitte von 3 μ zwar noch keinen Gewebeausfall, der grossen Luftgänge und der hiermit in Zusammenhang stehenden verminderten Festigkeit halber findet indessen leicht eine die Schönheit des Präparats vermindernde Verschiebung des Rindengewebes statt. Schnitte von 5 μ sind somit vorzuziehen. Für das Studium des Details, etwa des Gefässbündels, eignen sich Schnitte von 1 μ vortrefflich.

Den Vorzügen solch ideal dünner Schnitte, die sich mit Mikrotomen, deren Messerschlitten mit der Hand geführt wird, kaum oder zum Mindesten nicht so sicher herstellen lassen, stehen nun auch gewisse Nachtheile gegenüber. Eine Anzahl Objecte, darunter besonders solche, welche nicht mehr aus embryonalem Gewebe bestehen, schrumpfen mit den Einlegen in Paraffin mehr oder weniger. Dass sich durch Einbringen des losen Schnittmaterials in Wasser die Schrumpfungen grossentheils beseitigen lassen, dass hiedurch die Gewebe das Aussehen von völlig turgescenten erhalten, hatte ich an anderer Stelle beschrieben.[1]) Ideal dünne Schnitte, wie die oben

1) L. Koch, Mikrotechnische Mittheilungen I. Pringsheim's Jahrbücher für wissensch. Botanik Bd. XXIV pag. 14.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00341-0

erwähnten, vertragen nun nicht selten die dort angegebene Behandlung nicht, sie klappen bei der Ueberführung aus Alkohol in Wasser zusammen und sind dann meist verloren. Klebt man anderseits das Schnittmaterial mit Collodium-Nelkenöl auf, so verzichtet man auf eine Beseitigung der Schrumpfung. Ich versuchte somit, inwieweit man mit wasserhaltigen Klebemitteln ein besseres Resultat erzielen könnte. Den meisten Erfolg schien mir das von Gravis[1]) empfohlene Fixativ zu versprechen.[2]) Von diesem bringt man einige Tropfen auf den Objectträger, gibt die Schnitte auf und erwärmt schwach, so, dass das Paraffin weich wird aber nicht schmilzt. Nach Wegnahme der überschüssigen Flüssigkeit mittelst Fliesspapier lässt man eintrocknen und kann dann mit Terpentinöl, Alkohol und alkoholigen Farbstofflösungen weiter behandeln. Vorzüge des Klebemittels sollen sein: sehr geringe Neigung des Häutchens sich zu färben, glattes Auflegen der gefältelten oder gar gerollten Schnitte und Zurückführen der Zellen zur ursprünglichen Form uud Grösse. Ersteres fand ich nun thatsächlich bestätigt, in Bezug auf letzteren Punkt dagegen leistete das Fixativ keineswegs Befriedigendes. Wenn auch ganz schwache Schrumpfungen unter Umständen schwinden, so ist dies bei irgendwie stärkeren nicht der Fall. Das in den Zellen vorhandene Paraffin verhindert selbst in weichem Zustande eine ausgiebigere Ausdehnung der Zellwände.

Hieran wird auch nichts geändert, wenn man so stark erwärmt, dass das Paraffin schmilzt. Es scheint, dass letzteres im flüssigen Zustande die Aufnahme von Wasser seitens der Zellwände verhindert. Zudem wird nicht selten durch ein derartiges Verfahren das Präparat direct geschädigt.

Ferner besitzt das Klebemittel den Nachtheil, dass es sich in Wasser löst, die Behandlung der Schnitte mit wässerigen Farbstofflösungen, welche so häufig angezeigt ist, somit nicht erlaubt. Wenn man nun auch durch Aufgeben einer Collodiumlösung auf die eingetrockneten Schnitte diesem Nachtheil entgegentreten kann,[3]) so ist, ganz abgesehen von der Umständlichkeit der Combinirung zweier

---

1) A. Gravis, L'Agar-Agar comme fixatif des coupes microtomiques. Bull. d. l. Société belge de microscopie V, 1889, pag. 72. Ref. bot. Centralblatt, 1890, pag. 13.

2) $^1/_2$ g Agar-Agar mit 500 g destillirten Wasser behandelt, nach einigen Stunden erwärmt, bis eine gleichmässige Vertheilung der Substanz eintritt und dann durch ein feines Tuch filtrirt.

3) Zimmermann, die botanische Mikrotechnik pag. 38.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00342-6

Klebeverfahren, es misslich, dass man mit einer Doppelhaut zu thun bekommt, die bei ihrer Dicke, und weil sie die Schnitte jetzt völlig einhüllt, ein bequemes Färben und Auswaschen erschwert. Die Sicherheit des Verfahrens wird besonders in Bezug auf die Wegnahme überschüssigen Farbstoffes (Differenzirung) eine geringere.

Es wäre somit ein Klebemittel zu suchen, das zwar wasserhaltig, aber in kaltem Wasser unlöslich ist, und das — hierauf kommt es vor allem an — die Beseitigung der Schrumpfung der Schnitte unschwer gestattet. Glycerin-Gelatine besitzt diese Vorzüge. Ich bediente mich bei meinen Versuchen bis jetzt der Kaiser'schen,[1]) die sich folgendermaassen verwenden lässt:

Von der Gelatine bringe man ein Stückchen von der Grösse eines Stecknadelkopfes auf den gut gereinigten Objectträger, gebe 1—2 Tropfen Wasser zu und erwärme leicht. Die Gelatine schmilzt bald und lässt sich mittelst Nadel gleichmässig im Wasser vertheilen. Bei dieser Gelegenheit bewirke man, dass sich die Flüssigkeit auf dem Objectträger genügend und in Uebereinstimmung mit Zahl und Grösse der aufzusetzenden Schnitte ausbreitet. Mit Zunahme der Zahl solcher muss — wir werden uns hiermit noch zu beschäftigen haben — die Flüssigkeitsschicht eine ziemlich dünne sein. Für wenige oder gar Einzelschnitte, die uns hier zunächst interessiren, kommt es auf die Flüssigkeitsmenge so genau nicht an.

Auf den so vorbereiteten Objectträger bringt man das Schnittmaterial und erwärmt leicht über einer kleinen Flamme. Hierbei soll das Paraffin nur weich werden, es darf keinesfalls schmelzen.

Nach dem Erkalten kann unter Benützung schwacher Objectivsysteme eine Musterung der Schnitte vorgenommen, untaugliches beseitigt und der Rest in eine Reihe geordnet werden. Dann lässt man unter vorsichtigem Neigen des Objectträgers den überflüssigen Klebstoff ablaufen. Das Zurückbleibende genügt zur Herstellung eines Häutchens von vollständig ausreichender Klebkraft. Ein möglichst dünnes derartiges Häutchen ist nun erwünscht, weil mit zunehmender Dicke die Neigung, Farbstoffe in sich aufzuspeichern, beträchtlich wächst. War nach meinen Erfahrungen diese Neigung für Anilinfarben auch nur eine geringe, so ist dies weitaus weniger der Fall

1) E. Kaiser, Botanisches Centralblatt Bd. I, pag. 25. Ein Gewichtstheil feinster französischer Gelatine in 6 Gewichtstheilen destillirten Wassers eingeweicht, 7 Gewth. reines Glycerin und auf je 100 g der Mischung 1 g conc. Carbolsäure. Das Ganze 10—15 Minuten unter Umrühren und bis die Flocken schwinden erwärmt und durch Glaswolle filtrirt.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00343-2

für Hämatoxylin und im Allgemeinen für Farbstoffe mit Beizen. Nur ein sehr dünnes Klebhäutchen schützt hier vor unangenehmen Erfahrungen.

Aus diesem Grunde empfiehlt es sich auch, den jetzt vorzunehmenden Austrocknungsprocess nicht etwa sofort, unter Wegfall der oben beschriebenen Beseitigung des überflüssigen Klebstoffes — etwa durch Verdunstung der Gesammtmenge des letzteren — vor sich gehen zu lassen. Eine derartige allerdings bequemere Methode würde zudem weit mehr Zeit in Anspruch nehmen.

Nach 2—3 Stunden sind die Schnitte gewöhnlich genügend ausgetrocknet. Vorsicht ist hier insofern geboten, als man nur Material, von dem man völlig überzeugt ist, dass das Klebehäutchen entsprechend erstarrt war, mit den noch anzugebenden Reagentien behandeln darf. Andernfalls schwimmen schon bei dem Aufgeben von Alkohol die Schnitte ab.

Vollständig trockene Schnitte vertragen die Behandlung mit Terpentinöl, absolutem Alkohol, Wasser und den entsprechenden Farbstofflösungen. Eine Loslösung von dem Objectträger ist mir nie vorgekommen.

In Bezug auf die Beseitigung der Schrumpfung sind die Resultate zunächst gleich denjenigen bei Benützung des Gravis'schen Fixativs. Auch hier hindert das Paraffin die Ausdehnung der Zellwände. Erst nach Beseitigung der Einschmelzmasse durch Terpentinöl und der Verdrängung des letzteren durch absoluten Alkohol kann man unter Behandlung mit Wasser daran gehen, die Schrumpfung aufzuheben. Dies geschieht unter Erwärmen.

Man lasse von dem Wasser nur eine dünne Schicht auf dem Objectträger und bewege diesen vorsichtig über einer kleinen Flamme. Bemerkt man, dass die Schnitte sich eben loszulösen beginnen, so halte man sofort mit dem Erwärmen ein. Die vollständige Loslösung geht dann ganz allmählich vor sich. Man vermeide hierbei jede Erschütterung. Am besten bringt man den Objectträger alsbald unter eine Glasglocke, woselbst man die Schnitte zum zweiten Mal austrocknen lässt. Selbst bei geringen Flüssigkeitsmengen, deren Ueberschuss man dieses Mal nicht durch Ablaufenlassen beseitigen darf, fand das Schnittmaterial jetzt, da das hindernde Paraffin beseitigt ist, Gelegenheit, aufzuquellen.

Entscheidend für das Gelingen ist vor allem, dass man verhindert, dass die eben aufquellenden und dann sehr empfindlichen Schnitte sich verschieben. Diese sollen sich allmählich loslösen, auf die dünne

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00344-8

Flüssigkeitsschicht erheben und mit deren Verdunstung wieder an gleicher Stelle festkleben. Bei einiger Uebung ist das leicht zu erreichen. Leichter und sicherer als bei der Benutzung von Agar-Agar, bei der die Loslösung unter Wasser nicht gleichzeitig zu erfolgen pflegt. Der eine Schnitt erhebt sich dann früher, der andere viel später, sie gerathen über und durcheinander. Man hat es auch, was bei Glycerin-Gelatine durch vorsichtiges Erwärmen, nöthigenfalls auch durch rasche Abkühlung möglich ist, nicht in der Hand, regulirend in den Loslösungsprocess einzugreifen.

Sind die Schnitte zum zweiten Mal eingetrocknet — auch hier muss die Eintrocknung eine vollständige sein —, so behandle man sie mit absolutem Alkohol, Wasser und den betreffenden Farbstofflösungen.

Es ist ein Vorzug des Klebstoffes, dass das von ihm gebildete dünne Häutchen eine verhältnissmässig rasche Behandlung der Schnitte erlaubt. Schon die Beseitigung des Paraffins durch Terpentinöl erfolgt schnell, schneller als dies bei Benutzung von Collodium-Nelkenöl der Fall ist. Aehnlich verhält es sich mit dem Färben und Auswaschen. Die Flüssigkeiten wirken fast so, als hätte man es mit losem Schnittmaterial zu thun.

Eine Trübung des Häutchens, die bei Collodium hie und da eintritt, habe ich bei Glyceringelatine nicht beobachtet, vorausgesetzt, dass man eine zu starke Erwärmung — eine solche etwa, bei der das Paraffin schmilzt — vermeidet. Trübungen, die auf einer ungenügenden Wasserabgabe beruhen und die sich bei einer Collodiumunterlage leicht dann zeigen, wenn man nach der Behandlung mit absolutem Alkohol das ätherische Oel aufgibt, kommen nicht leicht vor. Der Glyceringelatine scheint durch Alkohol das Wasser schnell bis zu einem Grade entzogen zu werden, der das Einlegen in Harz gestattet.

Schliesslich hat der Klebstoff mit Agar-Agar das gemein, dass sich faltenschlagende oder gar gerollte Schnitte entrollen und glatt auflegen. Dem Collodium-Nelkenöl kommt diese Eigenschaft nicht oder nur in geringem Maasse zu. Man hat hier stets mit der Nadel nachzuhelfen, wobei Falten nicht immer zu verhindern sind.

Zu einem Klebeverfahren, wie das oben beschriebene, wird man natürlich nur dann greifen, wenn eine Behandlung der losen Schnitte nicht möglich ist. Man versuche daher zunächst unter Herausnehmen von Einzelschnitten aus dem Schnittbande, ob man nicht mit der einfacheren, weniger zeitraubenden Präparationsmethode[1]) ausreicht.

---

1) L. Koch, Mikrotechnische Mittheilungen I a. a. O. pag. 16.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00345-3

3. Myriophyllum proserpinacoides Gill.

Bei den bis jetzt geprüften Objecten war die Schnittfläche keine grosse. Es stellte sich heraus, dass es praktisch nicht von Bedeutung ist, dass die Schnitte keine völlig planen sind. Nun würde es sich darum handeln, ebenfalls an noch weichen Sprosstheilen zu untersuchen, ob und inwieweit ein derartiger Fehler mit zunehmender Querschnittgrösse ins Gewicht fällt.

Für Myriophyllum mit noch verhältnissmässig kleiner Schnittfläche — der Durchmesser betrug 2 mm — war das mikroskopische Bild ein völlig zufriedenstellendes. Schwierigkeiten ergaben sich nur in Bezug auf das Schneiden selbst. Infolge der Einbettung war das Object, obwohl es nur aus dünnwandigen Zellformen besteht, sehr spröde geworden. Bei dickem Schneiden (15 μ) rollen sich die Schnitte stark, bei dünnem (5 μ) zerknittern und zerbröckeln sie. Nur unter Befeuchten gelingt es, gute Einzelschnitte — Schnittbänder sind nicht herstellbar — zu erhalten.

Für Objecte, bei denen es auf die vorsichtige Entnahme von Einzelschnitten ankommt, ziehe ich die Bearbeitung mit dem Thomaschen Schlittenmikrotom vor. Dieses lässt der manuellen Geschicklichkeit einen grösseren Spielraum.

Stammtheile von Smilax, die ihren Grössenverhältnissen nach hier angeschlossen werden können, liessen sich wieder in tadellose Schnittbänder zerlegen. Infolge der Grosszelligkeit des Objectes wurde auf 10 μ eingestellt. Indessen erhält man auch bei 15 μ noch vollständige Schnittbänder, ein Beweis, dass die häufiger vorkommende, für Phlox bereits erwähnte Erschwerung des Schneidens mit zunehmender Schnittdicke durch die Beschaffenheit des Objectes bedingt ist.

4. Apocynum androsaemifolium L.

Die Schnittfläche war hier schon eine ziemlich grosse (4 mm Durchmesser). Ebensowenig wie bei Smilax wurde hierdurch die Güte des mikroskopischen Bildes wesentlich beeinträchtigt. Schnittbänder liessen sich mit Leichtigkeit herstellen, sowohl bei 2 μ, eine Dicke, welche als das Minimum für vollständige Schnitte gelten kann, als auch bei 5 μ, der für das Object geeignetsten Schnittdicke. Bei 15 μ trat Neigung zum Rollen ein.

5. Nymphaea lutea L., Blattstiel. Hyacinthus orientalis L., Blüthenstiel.

Bei der grossen Schnittfläche der vorliegenden Objecte — sie betrug etwa 1 qcm — liess sich erwarten, dass die Abweichung von

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00346-9

dem planen Schnitte schon recht bemerkbar sein würde. Die mikroskopische Prüfung ergab auch, dass die Präparate an bestimmten Stellen — den oberen und unteren eines in Bezug auf die Orientirung in dem Objecthalter verticalen Bandes — thatsächlich ziemlich schief geschnitten waren. Bei dem quantitativen Ueberwiegen rundlicher Zellen, die optisch gegen schiefes Schneiden verhältnissmässig wenig empfindlich sind, machte sich indessen der Fehler nicht allzu auffällig geltend. Dessenungeachtet dürfte hier die Bearbeitung mit dem Thoma'schen Schlittenmikrotom oder jedem anderen Instrument, das ein planes Schneiden gestattet, vorzuziehen sein. Dies empfiehlt sich auch schon desshalb, weil die Objecte, und darunter besonders Nymphaea, ziemlich brüchig sind, die Herstellung von Schnittbändern somit erschwert, wenn nicht gar unmöglich ist. Auch für Einzelschnitte — sie verlangen bei der grosszelligen Struktur das Einstellen auf 15—20 μ — war die Behandlung der Schnittfläche mit Wasser nicht zu entbehren.

Stammtheile von festerem Gefüge.

6. Bryonia dioica Jacq.

Die stärker verdickten Zellen der Aussenscheide selbst jugendlicher Stammtheile bedingen schon eine bedeutendere Festigkeit. Nichtsdestoweniger liessen sich Schnittbänder (5—10 μ) noch mit ziemlicher Sicherheit anfertigen. Das Object schneidet sich viel besser, als ein an sich weiches, das aber in Folge der Einbettung spröde geworden ist. Erhält, wie das bei älteren Stammtheilen vorkommt, die Aussenscheide diese unangenehme Eigenschaft, so ist es mit der Herstellung tadelloser Schnitte gewöhnlich vorbei.

7. Syringa vulgaris L. Winterknospe.

Um das Schneiden zu ermöglichen, müssen zuvor die festen Schuppenblätter beseitigt sein. Alsdann lässt sich, besonders wenn man von Zeit zu Zeit die Schnittfläche anfeuchtet, ein ziemlich lückenloses Band (5—10 μ) herstellen.

8. Elymus giganteus Vahl.

Das mit mechanischen Zellformen schon ausgiebig ausgestattete Object erfordert ebenfalls die Behandlung mit Wasser. Der Ausfall von Schnitten ist hier schon grösser, als bei Bryonia und Syringa, doch lässt sich immerhin auf Bänder von 6—8 Einzelschnitten rechnen. Die geeignetste Schnittdicke war 6 μ. Darüber hinaus wird das Schneiden schwieriger.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00347-5

9. Iris florentina L.

Das Object war weniger seiner Festigkeitsverhältnisse halber, als wegen seiner Sprödigkeit schwer zu Bändern zu verarbeiten. Man muss zufrieden sein, wenn man unter Beobachtung der schon mitgetheilten Vorsichtsmaassregeln, und besonders durch Verhindern des Rollens der Schnitte mittelst der Nadel Bänder von 2—3 Schnitten erhält. Diese sind zudem, was ebenfalls nicht günstig ist, dick zu nehmen (20 μ). Andernfalls wird ein Gewebeausfall unvermeidlich.

Direct störend wirkt hier, dass die Schnitte keine planen sind. Die gegen schiefes Schneiden an sich schon sehr empfindlichen mechanischen Zellen werden bei der verhältnissmässig grossen Schnittfläche (8 mm Durchmesser) an Stellen des Objectes, die oben näher bezeichnet sind, stark schief getroffen. Das mikroskopische Bild kann nicht als gut bezeichnet werden. Eine Bearbeitung mit Instrumenten, welche planes Schneiden gestatten, ist jedenfalls vorzuziehen.

Feste Stammtheile.

10. Secale anatolicum Boiss.

Wie sich auf Grund der seitherigen Erfahrungen erwarten liess, werden mit zunehmender Festigkeit der Objecte die Schnittbänder noch unvollkommener. Nach einem oder höchstens zwei Schnitten tritt ein Ausfall ein. Ferner ist auch nicht auf völlig gleichmässige Schnittdicke zu rechnen, weil, was besonders bei dünnem Schneiden leicht vorkommt, der eine Schnitt manchmal vollständig versagt und der nächste dann um so dicker ausfällt. Bei Einstellung auf 10 bis 15 μ arbeitete das Instrument noch am sichersten.

Die Einzelschnitte können recht schöne sein. Besonders die dünnen mit Gewebeausfall (8—10 μ) geben oft anatomische Details, wie die Gefässbündel ganz vorzüglich.

11. Thalictrum trigynum Fisch.

Besitzen die zu verarbeitenden Pflanzentheile verhältnissmässig kleine Schnittfläche (1—1,5 mm Durchmesser), so gelingt das Schneiden von Bändern mit bis zu 5 Einzelschnitten noch mit ziemlicher Sicherheit. Andernfalls ist das Resultat dasselbe wie bei Secale.

Was die Güte der Einzelschnitte angeht, so wäre hervorzuheben, dass sich bei dem Reichthum an mechanischen Zellformen die Abweichung vom planen Schneiden sehr bemerkbar macht, wenn die Schnittfläche über 2,5 mm Durchmesser hinausgeht. Dieserhalb sowohl, als weil bei Einzelschnitten, welche ein sehr vorsichtiges Schneiden

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00348-1

erfordern, ein Mikrotom, dessen Messerschlitten mit der Hand geführt wird, oft bessere Dienste leistet, ziehe ich ein derartiges Instrument vor.

Das Gleiche gilt für Silaus alpestris Bess., dessen fester Stamm schon so ziemlich auf der Grenze des mit derartigen Mikrotomen überhaupt Schneidbaren steht.

Wurzeln.

Von Wurzeln geringer Festigkeit wurden diejenigen von Vicia Faba L. und Zea Mays L. untersucht. Bei der Verarbeitung der Wurzelspitze sowie von Theilen, die bis zu 5 cm unter dieser entnommen wurden, leistet das Mikrotom wieder sehr gute Dienste. Vorausgesetzt ist allerdings, dass die Objecte nicht — was besonders leicht bei unvorsichtigem Einbetten vorkommt — spröde werden. Sonst wäre, zumal die grosszelligen Organe schon dickeres Schneiden (10 μ) erfordern, die Herstellung lückenloser Schnittbänder erschwert.

Besonders bei dünnem, anatomische Details berücksichtigendem Schneiden ist man häufig genöthigt, die Schnitte aufzukleben. Das oben für Glycerin-Gelatine beschriebene Verfahren konnte hier wieder mit gutem Erfolg angewandt werden, es gestattete zudem eine schnelle und sichere Färbung der Schnitte.

In Bezug auf die Haltbarkeit der Färbungen stehen mir jetzt einige Erfahrungen zu Gebote, auf die bei dieser Gelegenheit einzugehen vielleicht einiges Interesse hat.

Was zunächst die mit Alaun- oder Boraxkarmin gefärbten Präparate anlangt — sie waren 2—5 Jahre alt —, so haben sie sich nahezu unverändert gehalten. Dies gilt auch hinsichtlich der Kernfärbungen, die an Intensität den Anilin- und Hämatoxylintinctionen zwar von vorneherein wesentlich nachstehen, vor diesen aber den Vorzug grösserer Beständigkeit besitzen.

Die Safraninfärbung pflegt im Laufe der Zeit etwas abzublassen. Bei absichtlich schwachem Färben und ziemlich durchgängig bei Kerntinctionen macht sich dies nicht selten unliebsam bemerkbar. Anderseits findet man aber auch manchmal Präparate (sie waren 2 bis 3 Jahre alt), welche besonders in Bezug auf die Membranfärbung den frisch gefärbten kaum nachstehen. Die Resultate sind somit im Allgemeinen befriedigend.

Bismarckbraun hat sich von allen von mir verwendeten Anilinfarben am besten gehalten. Fast durchgängig tritt die Färbung in ihrer ursprünglichen Lebhaftigkeit hervor, einerlei, ob man leicht oder intensiv gefärbt hat.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00349-9

Als empfindlichster Farbstoff erwies sich Hämatoxylin. Am constantesten war die Färbung bei bereits ausgebildeten Stamm-, Blatt- und Wurzeltheilen. Hier trat im Laufe der Zeit kaum eine nennenswerthe Farbenänderung ein. Anders verhielt es sich mit embryonalem und diesem nahe stehendem Gewebe. Dieses kann die Farbe halten, es ist aber ebensogut möglich — von meinen zahlreichen Präparaten von Vegetationspunkten wäre etwa der dritte Theil zu nennen —, dass, sogar nach verhältnissmässig kurzer Zeit, entweder eine totale Entfärbung eintritt, sei es des ganzen oder bestimmter Theile des Schnittes, oder dass nur ein mehr oder weniger störendes Abblassen stattfindet. Es hat den Anschein, als ob bestimmte Inhaltsbestandtheile der Gewebe zersetzend auf den Farbstoff einwirken.

Wenn man sich nun bei der Schönheit und Bequemlichkeit der Hämatoxylinfärbung gerade für Vegetationspunkte hierdurch kaum abhalten lassen wird, den Farbstoff zu benützen, so verdient seine relative Unbeständigkeit doch immerhin Berücksichtigung.

Eingelegt war der grösste Theil der Schnitte in Dammar-Xylollösung, Gummi-essigsaures Kali und Glycerin-Gelatine.

Letzteres Einschlussmedium, über dessen Haltbarkeit ich schon bei anderer Gelegenheit[1]) zu klagen Anlass hatte, zeigte sich auch für die Folge wenig befriedigend. Zudem ist besonders bei dünnwandigem Gewebe die Aufhellung mit der Zeit eine so bedeutende, dass man schon dieserhalb besser von der Verwendung absieht.

Ausgezeichnetes leistet dagegen sowohl bei dünnwandigen Objecten, als auch bei solchen von festerer Struktur Gummi-essigsaures Kali, die für Anilinfarben geeignete Hoyer'sche Lösung. Vier Jahre alte Präparate — es waren ungefärbte — sind fast noch schöner, als die eben eingelegten. Wahrscheinlich unter dem Einfluss des essigsauren Salzes — Gummilösung mit Glycerinzusatz verhielt sich wie die Glycerin-Gelatine — heben sich die anatomischen Details sehr gut hervor. Ich kann das Einschlussmedium gerade für ungefärbte ausgebildete oder der Ausbildung nahe stehende Pflanzentheile nur empfehlen.

Minder elegant, aber für Untersuchungszwecke völlig brauchbar, erhält sich embryonales Gewebe.

Auch für gefärbte Schnitte (mit Ausschluss der Carmin- und Hämatoxylinfärbungen) bewährte sich das Einschlussmedium. Hierfür wurde es allerdings selten und nur in den Fällen verwendet, in denen ein feuchter Einschluss angezeigt war.

---

1) Mikrotechnische Mittheilungen a. a. O. pag. 23 ff.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00350-0

Trübungen des Einschlussmittels habe ich selbst an den ältesten Präparaten nicht beobachtet. Von sonstigen Unzuträglichkeiten ist über das Eintreten von Luftblasen unter das Deckglas zu berichten. Dies geschah aber nur bei sehr dicken Schnitten (30—40 μ) und ist leicht zu verhindern, wenn man in der ersten Zeit, während des Eintrocknens der Einschlussflüssigkeit, von dieser einige Tropfen an den Rand des Deckglases gibt. Ein Lackverschluss erwies sich als unnöthig.

Das Einlegen mit Anilin, Carmin und Hämatoxylin gefärbter Schnitte in ein wasserfreies Einschlussmedium wurde am häufigsten vorgenommen. Die hierfür fast ausschliesslich benutzte Dammar-Terpentinöl-Xylollösung hat sich ebenfalls vollständig bewährt. Irgendwelche störende Ausscheidungen oder gar Trübungen habe ich selbst an 5 Jahren alten Präparaten nicht bemerkt.

Wurzeln von festerem Gefüge schneiden sich je nach ihrer Härte wieder weniger gut. Von den mit mechanischen Zellen schon ziemlich reich ausgestatteten älteren Wurzeltheilen von Sonchus uliginosus Bieb. liessen sich indessen noch leicht lückenlose Schnittbänder anfertigen.

Etwas schwieriger war die Bearbeitung der Wurzel von Iris pallida Lam., weil hier beim Ansetzen des Messers an die Endodermis das centrale feste Gefässbündel leicht aus dem weicheren Grundgewebe ausreisst und sich zusammenrollt. Vollständige Bänder erhält man gewöhnlich auch dann nicht, wenn man die Schnittfläche anfeuchtet. Das Ausreissen wird aber meist verhindert, die Einzelschnitte fallen sehr schön aus.

Blätter.

Die weicheren Blätter verhalten sich wie jugendliche Stamm- und Wurzeltheile. Bei 2—5 μ Schnittdicke — Cyclamen europaeum L. wurde hierauf geprüft — sind die Bänder wieder tadellose. Das Object verträgt derartig dünnes Schneiden, wie es mit dem Thoma'schen Mikrotom — hier waren 5 μ so ziemlich das Minimum des Erreichbaren — kaum, jedenfalls aber nicht mit der Sicherheit und Schnelligkeit möglich gewesen wäre, sehr gut.

Von den Blättern wurden Ausschnitte von 1 cm Breite verarbeitet. Bei derartigen Grössenverhältnissen würde eine verticale oder ähnliche Orientirung des Objectes zu schiefen zum Theil völlig unbrauchbaren Schnitten führen. Man hat desshalb die Einspannung in den Objecthalter vertical, also so vorzunehmen, dass die lange Kante des Blattausschnittes parallel mit der Schneide des Messers vorläuft. Alsdann sind die Schnitte selbst durch die dicksten Blätter vorzüglich.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00351-6

Die lose Behandlung auf dem Objectträger vertragen die dünnen und langen Schnitte am wenigsten. Bei der Ueberführung aus Alkohol in Wasser klappen sie sehr leicht zusammen. Ein Klebeverfahren, das, wie das oben beschriebene, das Aufquellen gestattet, ist gerade hier von grossem Werth.

Blätter von festerem Gefüge, wie die nachstehenden, sind weniger empfindlich. Das Aufkleben ist dann nur selten erforderlich.

12. Nerium Oleander L., Camellia japonica L. und Clivia nobilis Lindl.

Schnittbänder gelingen besonders bei den beiden ersteren Pflanzen noch mit ziemlicher Sicherheit. Clivia, ein etwas spröd gewordenes Object, schneidet sich schon schwerer. Wie bei allen festeren Pflanzentheilen, ist nicht ausgeschlossen, dass einmal ein Schnitt versagt und der nächste dann um so dicker ausfällt. Nerium Oleander wurde bei 3—5 μ, die beiden anderen Objecte bei 10—12 μ Schnittdicke bearbeitet. Die Einzelschnitte waren sehr schöne.

13. Typha latifolia L., Bromelia antiacantha Bert. und Hohenbergia strobilacea Schult.

Die Prüfung ergab insofern kein übereinstimmendes Resultat, als sich von Typha noch recht gut Schnittbänder herstellen liessen (3—5 μ), besser fast, als bei den Pflanzen der letztgenannten Gruppe, während Bromelia und Hohenbergia, die nicht sehr viel fester sind, schon so ziemlich auf der Grenze des mit unserem Instrument Schneidbaren stehen. Die Sprödigkeit der Objecte spielt auch hier eine Rolle. Einzelschnitte, die, wenn sie vollständig ausfallen sollen, dick (20—25 μ) genommen werden müssen, verlangen schon eine sehr aufmerksame Behandlung. Wo eine solche nothwendig ist, ziehe ich das Thoma'sche Schlittenmikrotom vor.

Blüthenblätter, Sexualorgane.

14. Cyclamen europaeum L., Tulipa Gesneriana L., Fuchsia hybr.

Das Instrument leistet hier wieder Vorzügliches. Ohne den Ausfall von Schnitten befürchten zu müssen, kann man bis auf 1—2 μ Dicke einstellen. Besonders bei den Sexualorganen ist derartig dünnes Schneiden von Vortheil. Hier kann übrigens, bei Objecten, die eine sehr feine, unter Umständen während des Schneidens zu ändernde Orientirung erfordern, der Fall eintreten, dass man zweckmässiger Weise zu dem oben erwähnten Schlittenmikrotom greift, dessen Objecthalter mechanisch besser ausgerüstet ist.[1])

1) Der von Herrn Jung nach meiner Angabe construirte Objecthalter — er wurde in meinem Aufsatz über Paraffineinbettung (Pringsheims Jahrbücher für

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00352-2

II. Längsschnittserien.

Vegetationspunkte von Stamm und Wurzel.

Dass Objecte, wie die hier in Betracht kommenden, als solche für die Bearbeitung mit unserem Mikrotom sehr geeignet sind, geht aus dem schon Gesagten zur Genüge hervor. Es kann sich somit nur noch darum handeln, festzustellen, ob der verhältnissmässig einfache Objecthalter für die Orientirung, die gerade bei Längsschnittserien eine sehr genaue sein muss, ausreicht. Ferner wäre zu prüfen, ob, was die Schnittdicke, die Schnelligkeit und Sicherheit des Schneidens anlangt, das Instrument Vorzüge vor dem Schlittenmikrotom hat, ob endlich die mehrfach erwähnte Fehlerquelle, das nicht plane Schneiden praktisch von Bedeutung ist.

In Bezug auf letzteren Punkt kann nun ganz allgemein gesagt werden, dass unter der Voraussetzung, dass man der Stamm- oder Wurzelspitze eine Lage gibt, in der ihre Längsachse parallel mit der Messerschneide verläuft, die Schnitte sehr gut ausfallen. Nur bei ganz ausnahmsweise dicken Objecten — Luftwurzeln mit über 4 mm Durchmesser und terminalen Knospen von ähnlichen Dimensionen — könnten sich Schwierigkeiten ergeben. Das fällt, da man mit derartigen Objecten selten zu thun hat, kaum ins Gewicht, zumal da, wo man noch über ein Schlittenmikrotom verfügt.

Was die Sicherheit des Schneidens anlangt — die Schnelligkeit steht von vornherein ausser Frage —, so kann man sich leicht überzeugen, dass Mikrotome mit mechanischer Führung des Messers oder des zu schneidenden Objectes Besseres leisten, als solche, deren Messerschlitten mit der Hand bewegt wird. Bei diesen Instrumenten sind kleine Differenzen der Schnittdicke nie ganz ausgeschlossen, jene dagegen arbeiten, vorausgesetzt, dass man es mit geeigneten Objecten zu thun hat, vollständig gleichmässig. Diese Gleichmässigkeit bedingt es auch, dass die Entnahme wesentlich dünnerer Schnitte ermöglicht wird. Schnittserien von 10 μ Dicke waren früher[1]) so ziemlich das Minimum des Erreichbaren. Jetzt gelingt es mit Leichtigkeit bis auf 5 μ und oft noch weiter herabzugehen, ohne dass man einen Schnittausfall zu befürchten hat.

Dass derartig dünne Schnitte gerade bei den kleinzelligen Vegetationspunkten des Stammes von Vortheil sind, bedarf keiner weiteren Erwähnung. An die neue Bearbeitungsweise muss man sich aller-

wissensch. Botanik Bd. XXI, Heft III) beschrieben — entspricht, wie ich mich im Laufe der Zeit überzeugt habe, allen an ihn zu stellenden Anforderungen.

1) L. Koch, Die Paraffineinbettung a. a. O. pag. 41.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00353-7

dings erst etwas gewöhnen. Besonders die Behandlung der zarten Schnittbänder und hierbei deren Prüfung auf diejenigen Theile, die man des Aufbewahrens werth erachtet, endlich das Aufkleben solcher erfordert einige Uebung.

Letzteres gilt auch von der Orientirung des Objectes. Ich nehme diese gewöhnlich so vor, dass ich den Objecthalter auf den Tisch stelle und das Object unter Benutzung der Drehungsvorrichtung um die beiden gekreuzt stehenden Achsen in die richtige Lage bringe. Nach Fixirung durch die entsprechenden Schrauben, wird der Halter in seinen Ansatz geschoben und so gedreht, dass das Object horizontal liegt. Dann schiebe man den Halter so vor, dass das Object die innere Messerfläche beinahe berührt und ergänze, indem man sich an diese hält, nöthigenfalls die Orientirung. Der Bewegungshebel ist hierbei, auf schon beschriebene Weise, so einzustellen, dass er nicht zu tief ausschlägt. Das Object soll bei tiefstem Stand sich nicht wesentlich unter der Messerschneide befinden.

Für gerade verlaufende Organe, mit denen man es ja meist zu thun hat, genügt nach meinen Erfahrungen der Objecthalter vollständig. Ist das Object, wie das beispielsweise bei Wurzelspitzen zutreffen kann, gekrümmt oder gar spiralig gedreht, kommt es, ganz allgemein gesprochen, darauf an, dass bestimmte Theile des Objectes und nicht dieses in seiner Gesammtheit bei dem Schneiden berücksichtigt werden müssen, die unter Umständen eine Aenderung der Orientirung während des Schneidens auf Grund der Prüfung von Einzelschnitten unter dem Mikroskop oder der Schnittfläche mit der Lupe erfordern, so ist ein mechanisch vollkommenerer Objecthalter und mit ihm die Bearbeitung durch das Schlittenmikrotom, das zudem eine bequemere Beobachung der Schnittfläche gestattet, angezeigt. Das Gleiche gilt von Objecten, die, was bei Vegetationspunkten selten vorkommt, infolge der Einbettung spröde werden, somit ein sehr vorsichtiges Schneiden unter öfterem Befeuchten der Schnittfläche verlangen.

Aufzukleben hat man die Schnitte unter allen Umständen. Da Vegetationspunkte wenig oder nicht schrumpfen, so ist es meist gleichgiltig, ob man Collodium-Nelkenöl oder Glycerin-Gelatine verwendet. Ersteres ziehe ich dann vor, wenn Bänder mit vielen und kleinen Schnitten auf dem Objectträger unterzubringen sind. Dieselben gerathen beim Aufsetzen auf eine Flüssigkeitsschicht, wie sie das letztgenannte Klebemittel bedingt, leicht untereinander, während sie auf Collodium-Nelkenöl sofort festkleben. Bänder mit grösseren Einzelschnitten lassen sich leicht mit Glycerin-Gelatine fixiren, die bei

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00354-3

Schnitten mit Neigung zum Rollen oder Faltenschlagen angezeigt ist. Zu dem Aufquellen der Schnitte nach Entfernung des Paraffins durch Erwärmen der mit letzterem Klebstoff behandelten Präparate unter Wasser nach der oben beschriebenen Methode wird man nur selten schreiten. Wenn es hie und da einmal nothwendig werden sollte, dürfen nicht zu viele Schnitte auf dem Objectträger vereint sein, zumal wenn sie sehr klein sind. Ferner muss die Wasserschicht sehr dünn genommen und äusserst vorsichtig unter Vermeidung jeder Erschütterung erwärmt werden, wie man denn auch vor einer solchen das Präparat bis zum zweiten Austrocknen thunlichst zu hüten hat.

Zusammenfassung.

Das in vorstehendem Aufsatz beschriebene Mikrotom leistet Vorzügliches in allen den Fällen, in denen weiche Pflanzentheile — sie dürfen durch die Einbettung nicht spröde werden — geschnitten werden sollen. In Bänder von lückenlosen Schnitten mit nöthigenfalls äusserst geringer Dicke, wie solche mit dem Thoma'schen Schlittenmikrotom nicht, oder jedenfalls nicht mit einer derartigen Sicherheit und Schnelligkeit herzustellen sind, lassen sich zerlegen Vegetationspunkte von Stamm und Wurzel, Pflanzentheile, die im Grossen und Ganzen bis zu 5 cm unter diesen genommen werden, weiche Blätter, Blüthen und Sexualorgane.

Sind die Pflanzentheile festere, so wird die Bearbeitung schon eine schwierigere. Zunächst bezieht sich dies weniger auf die Einzelschnitte als die Schnittbänder, die mit zunehmenden Festigkeitsverhältnissen leicht einen dementsprechenden Ausfall zeigen. Allzuviel hat dies nun insofern nicht zu sagen, als die hier in Betracht kommenden Objecte meist keine lückenlosen Schnittserien erfordern.

Bei festen Pflanzentheilen ist endlich auch die Herstellung der Einzelschnitte eine schwierigere. An und für sich dürfte hier die Leistung der beiden verglichenen Mikrotome so ziemlich die gleiche sein. Wenn ich für derartige Fälle dem Thoma'schen Schlittenmikrotom den Vorzug gebe, so geschieht dies, weil es der manuellen Geschicklichkeit einen grösseren Spielraum lässt, eine solche aber gerade bei Objecten in Betracht kommt, bei denen die Entnahme von Einzelschnitten eine vorsichtige sein muss.

Dies gilt auch für an sich weiche durch die Einbettung aber spröde gewordene Pflanzentheile. Ferner werden Organe, welche eine sehr genaue Orientirung oder gar eine Aenderung der letzteren während des Schneidens erfordern oder wahrscheinlich erscheinen lassen, besser mittelst des genannten Schlittenmikrotoms bearbeitet.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00355-9

Endlich hat man zu letzterem Instrument dann zu greifen, wenn die Schnittfläche des Objectes eine relativ grosse ist (etwa über 4 qmm bei weichen Pflanzentheilen) und sich somit das nicht völlig plane Schneiden unliebsam bemerkbar machen könnte. Praktisch war dasselbe, wie wir gesehen haben, von verhältnissmässig geringer Bedeutung. Die hier in Betracht kommenden Dimensionen werden nur selten und dann meist nur in einer Richtung überschritten. In letzterem Falle hat man in der horizontalen Orientirung ein Mittel in der Hand, um den Fehler auf ein ziemlich bedeutungsloses Minimum zu reduciren.

Jedes der beiden genannten Instrumente besitzt somit seine Vorzüge, keines von ihnen dürfte zu entbehren sein. Besonders angezeigt scheint mir das Hebelmikrotom — dessen mässiger Preis[1]) fällt hier auch ins Gewicht — für Institute, in denen man eine grössere Zahl von Praktikanten in die Pflanzenanatomie einzuführen hat. Das Schneiden aus freier Hand muss ja zunächst gelehrt werden. Bei den Schwierigkeiten, die dem Anfänger aber gerade hier entgegentreten und die ihn nur zu leicht entmuthigen, ist es von Vortheil, von Zeit zu Zeit geschnittenes Material zu der ferneren leicht zu erlernenden Behandlung auf dem Objectträger in den Cursus einzufügen. Es ist ein Vorzug des Hebelmikrotoms, dass sich mit ihm derartiges Material schnell in grosser Menge herstellen lässt. Dass, zumal hier wo es auf lückenloses Schneiden nur selten ankommt, so ziemlich das meiste dessen, was man zu Uebungszwecken bedarf, mit dem Instrument bearbeitet werden kann, haben wir bereits gesehen, ebenso aber auch, dass es mit gewissen Einschränkungen auch für eingehendere Untersuchungen sehr brauchbar ist.

Das Studium vorzüglicher Schnitte regt zur Vervollkommnung der präparativen Geschicklichkeit an. Man kann den Anfänger bei richtigem Wechsel des aus freier Hand, sowie des mechanisch zu bearbeitenden Materials nach beiden Richtungen besser und schneller fördern, ihm nach und nach die Herstellung der Schnittbänder und die Einbettung überhaupt übertragen und ihn so allmählich auch in die moderne Schneide- und die damit zusammenhängende Tinctionstechnik einführen. Beide sind heut zu Tage nicht mehr zu entbehren, sie erfordern in ihrer Gesammtheit aber kaum einen geringeren Grad von Geschicklichkeit und Erfahrung, wie die alten Präparationsmethoden.

1) Der Preis des Instrumentes beträgt excl. Messer 100 Mark, er erhöht sich bei Bestellung der Vorrichtung zur selbständigen Abführung der Schnittbänder um 40 Mark.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05163-00356-5

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1893

Band/Volume: 77

Autor(en)/Author(s): Koch Ludwig

Artikel/Article: Mikrotechnische Mittheilungen. II Ein von R. Jung gebautes Mikrotom und seine Verwendung in der Pflanzenanatomie. 327-352