© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

3. E. Pfitzer: Ueber eine Einbettungsmethode für entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen.[1])

Eingegangen am 3. November 1887.

Während auf zoologischem Gebiet Schnitte aus freier Hand nur noch ausnahmsweise gemacht werden, vielmehr das Mikrotom und die verschiedenen Einbettungsmethoden allgemein im Gebrauch sind, ist im Bereich der botanischen Untersuchungen das Gegentheil der Fall. STRASBURGER sagt in der zweiten Auflage seines „Botanischen Praktikums" ausdrücklich: „Von den Botanikern sind die Einbettungsmittel bis jetzt sehr wenig angewandt worden, einige derselben dürften übrigens, namentlich für sehr kleine Objecte, sich noch Eingang verschaffen"[2]) und ferner: „Der Botaniker wird überhaupt bei der Beschaffenheit seines Materials ohne besondere Schneidmaschinen auskommen können oder doch . . . . . sich mit Handmikrotomen der einfachsten Art begnügen."[3]) Als den einzigen Fall, in welchem überhaupt für weiche Objekte bei botanischen Untersuchungen Einbettungsmittel benutzt worden seien, erwähnt STRASBURGER[4]), dass KOCH[5]) Paraffin für diesen Zweck angewandt habe.

Meine Ansicht geht dahin, dass für entwicklungsgeschichtliche Arbeiten, bei denen wie in der Zootomie sehr weiche Objecte zu schneiden sind, das Mikrotom und die Einbettungsmittel rasch Bedeutung gewinnen werden. Wenigstens hat mir die hier zu beschreibende Methode bei einer über die Entwicklung der Orchideenblüthe angestellten Untersuchung, (deren Ergebnisse demnächst in PRINGSHEIM's Jahrbüchern veröffentlicht werden sollen), wesentliche Dienste geleistet. Aus freier Hand gelingt es nicht leicht einen längeren jungen Blüthenstand seiner ganzen Länge nach in eine grössere Anzahl gleichmässig dünner Schnitte zu zerlegen, von denen keiner verloren gehen darf, und ebenso ist es schwer eine lückenlose Serie von Querschnitten einer Knospe zu erhalten, die zu klein ist, um sie

1) Eine kurze Mittheilung über die hier zu beschreibende Methode findet sich im Tageblatt der Wiesbadener Naturforscherversammlung 1887.

2) A. a. O. S. 268.

3) A. a. O. S. 265.

4) A. a. O. S. 270.

5) Ueber die Entwicklung der Cuscuteen. Bot. Abhandl. herausg. v. HANSTEIN. Bd. II. Heft 3. S. 24.

©Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

bequem fassen zu können. Gerade solche Serien sind aber sehr werthvoll, um bei complicirteren Gebilden eine klare Vorstellung über diese Gestalt zu gewinnen.

Koch tauchte die Pflanzentheile in Alkohol, um oberflächlich anhängendes Wasser zu entfernen, und schmolz sie dann in eine ihrer Härte entsprechende Mischung von Talg und Paraffin ein; diese Substanzen wurden dann von den aus freier Hand gemachten Schnitten durch Benzol und Alkohol entfernt. Für manche Zwecke ist dies Verfahren gewiss zu empfehlen — für andere, namentlich für Objecte mit inneren Hohlräumen, wie junge Blüthenknospen, tritt dagegen der Umstand sehr störend hervor, dass das Object von dem Einbettungsmittel zwar äusserlich umgeben, aber nicht durchdrungen ist, also jene Hohlräume nicht ausgefüllt sind; ausserdem fällt natürlich auch das Objekt ziemlich leicht aus dem Paraffingemisch heraus.

Ganz neuerdings hat dann Schönland[1]) noch ein Verfahren zur Einbettung in Paraffin beschrieben, mit welchem er „fast ausnahmslos" gute Resultate erhielt, indem ein Schrumpfen der Objecte „fast gänzlich ausgeschlossen" war. Immerhin kam es aber doch noch vor und ist auch diese Methode ziemlich zeitraubend.

Es musste also vor Allem ein Medium zur Einbettung gesucht werden, welches die Pflanzentheile durchdringt, bei dem aber diese Missstände fortfallen. Das auch von den Zoologen vorzugsweise angewandte Paraffin erfordert eben ein ziemlich umständliches Verfahren, damit eine solche Durchdringung eintritt.[2]) Das Entwässern mit Alkohol, Eintragen in absoluten Alkohol, Uebertragen in Chloroform oder ätherische Oele, in eine Paraffinlösung und endlich in geschmolzenes Paraffin, sowie die Anwendung fast aller dieser Substanzen in umgekehrter Reihenfolge als Lösungsmittel an den Schnitten, bis dieselben wieder im Wasser liegen, also den ursprünglichen Zustand annähernd wieder erreicht haben, kann schon des grossen Zeitverlustes halber abschreckend wirken. Ausserdem kommt aber noch in Betracht, dass Aether, ätherische Oele und Chloroform, wenn man nicht sehr vorsichtig verfährt, an jungen Pflanzentheilen leicht Schrumpfungen bewirken, die sich oft gar nicht wieder ausgleichen lassen. Endlich ist das Paraffin nicht genügend durchsichtig, um die darin enthaltenen kleinen Objekte deutlich sehen zu lassen, wodurch die Orientirung derselben beim Schneiden sehr erschwert wird. Den gleichen Nachtheil der Undurchsichtigkeit haben die Eiweissmassen, Wachs und einigermassen auch das Celloidin, bei dessen Anwendung ausserdem wieder Aether gebraucht werden muss.

Ich glaubte daher mein Augenmerk zunächst auf diejenigen Ein-

1) Botan. Centralblatt 1887. Bd. XXX. S. 283.

2) Vergl. d. Blochmann, über Einbettungsmethoden. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. I. 1884. S. 228.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

bettungsmittel richten zu sollen, welche erstens in Wasser löslich sind und zweitens eine ziemlich vollkommene Durchsichtigkeit besitzen. Beide Eigenschaften haben die von FLEMMING[1]) in die mikroskopische Technik eingeführten transparenten Seifen.

FLEMMING empfahl dieselben in gewöhnlichem Spiritus in der Wärme zu lösen und diese Lösung nach Einlegung des in Alkohol gehärteten Objects erstarren zu lassen. Das Seifenstück muss dann noch einige Tage trocknen, bis es die zum Schneiden nöthige Festigkeit erreicht.

KADYI[2]) modificirte dies Verfahren dahin, dass er 25 *g* Natronseife in 100 *cc* 96 pCt. Alkohol auf dem Wasserbad auflöste und vorsichtig so lange Wasser zusetzte, bis einige auf einen Objectträger gebrachte Tropfen der Masse beim Erstarren nicht mehr weiss wurden, sondern durchsichtig blieben, worauf die Einbettung in derselben Weise wie bei Flemming's Verfahren erfolgt.

In beiden Fällen enthält das Seifenstück, welches das Objekt umschliesst, erhebliche Mengen Alkohol und Wasser, welche beim Trocknen verdunsten. Schon FOL[3]) hat auf die sich hieraus ergebenden Uebelstände aufmerksam gemacht. Die Nachtheile bestehen darin, dass man lange Zeit abzuwarten hat, bis die zugeschnittenen Seifenstücke trocken und schnittfähig werden, ferner im Zusammenschrumpfen beim Trocknen. Namentlich den letzteren Uebelstand fand ich sehr störend: Die Stücke bekommen tief concave Flächen, lassen sich nicht gut dauernd aufheben, ja bisweilen trocknen sie aussen sehr stark aus, während die Masse im Innern weich und unschneidbar bleibt.

Ich bemühte mich nun das Wasser, welches ausserdem leicht Trübungen veranlasst, ganz zu umgehen und gleichzeitig zu erreichen, dass die Stücke beliebig lange unverändert zum Schneiden fertig aufgehoben werden können. Beides gelingt in der jetzt zu beschreibenden Weise.

Man erwärme im Wasserbad bei etwa 60—70° C. ein Gemisch von gleichen Volumtheilen Glycerin und 96 pCt. Alkohol (rectificatissimus der Apotheken) mit soviel kleingeschnittener, gelber, durchscheinender Glycerinseife, als sich darin löst. Das Erwärmen geschieht am besten in einem cylindrischen, mit Watte verstopften Gefäss, in dem weniger Alkohol verdunstet, als aus einer flachen Schale. Die erhaltene gelbe ganz durchsichtige oder nur ganz wenig getrübte Flüssigkeit giesst man entweder in eine flache Schale aus, oder gleich in Papierkästchen, welche man erhält, indem man um einen Kork einen

---

1) W. FLEMMING, eine Einbettungsmethode. Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. V. 1875. S. 123.

2) KADYI. Seife als Einbettungsmasse. Zoolog. Anzeiger. Bd. II. 1879. S. 476.

3) H. Fol. Lehrbuch d. vergl. mikroskop. Anatomie. 1884. S. 167.

©Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Papierstreifen wickelt und mit einer Nadel befestigt. Die Pflanzentheile, welche vorher von starkem Alkohol durchdrungen sein müssen, werden in das noch warme Gemisch eingebracht und, während dieses erstarrt, mit einer Nadel ungefähr so orientirt, wie es für die beabsichtigte Schnittebene zweckmässig ist. Ist die Masse ganz abgekühlt, so schneidet man im ersteren Fall entsprechende Stücke heraus, welche den Pflanzentheil rings von Seife umgeben enthalten, im letzteren wickelt man einfach den Papierstreifen ab und entfernt, um grösstmögliche Durchsichtigkeit zu erhalten, die mit ihm in Berührung gewesene rauhe Oberfläche des Seifenstückes. Will man bei grösseren Objekten die völlige Durchdringung noch mehr sichern, so kann man sie auch noch in einer kalt gesättigten analogen Seifenlösung liegen lassen, ehe sie in das heisse Gemisch kommen. Längeres Digeriren mit dem letzteren ist nicht zu empfehlen, da die alkalische Seifenlösung, wenn sie längere Zeit in der Wärme einwirkt, etwas macerirt. Da die erkaltete Einbettungsmasse sich in verkorkten Gefässen unbegrenzt lange hält und bei etwa 40° C., wieder flüssig wird, so kann sie fertig zum Gebrauch vorräthig gehalten werden.

In der angegebenen Art bekommt man glashell durchsichtige Einbettungen, welche die feinste Orientirung leicht gestatten, nach dem Erstarren in der Kälte sich gleich schneiden lassen und unverändert aufbewahrt werden können, wenn man sie in einem Gefäss über geschmolzenem Chlorcalcium aufhebt, wobei sie sogar besser, nämlich etwas fester werden. Sehr kleine Objekte lassen sich noch schneller einbetten, indem man einige Tropfen der Masse auf einen Kork bringt, das Objekt einlegt, mit einigen weiteren Tropfen bedeckt und mit der Nadel orientirt; so kleine Mengen der Seifenlösung erstarren völlig in einer Viertelstunde.

Für härtere Pflanzentheile ist die Methode nicht wohl anwendbar, da für diese die Einbettungsmasse nicht fest genug ist — hier wird Paraffin oder Celloidin mehr am Platz sein, während für Vegetationspunkte, junge Knospen u. s. w. die Seife den Vorzug verdient.

Zum Schneiden benutzte ich ein Thoma'sches Schlittenmikrotom — die Schnitte werden mit lauwarmem, etwas langsamer auch mit kaltem Wasser von der Seife befreit und haben vermöge des Alkali's, welches auf sie einwirkte, gleich eine ziemliche Durchsichtigkeit, wenn man sie dicker nimmt — es gelingt aber auch ganz leicht Schnitte zu erhalten, welche noch nicht eine Zelllage dick sind und die also ihren Zellinhalt beim Auswaschen verlieren. Für das Studium der Blüthenentwicklung sind natürlich so dünne Schnitte nicht zweckmässig.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1887

Band/Volume: 5

Autor(en)/Author(s): Pfitzer Ernst Hugo Heinrich

Artikel/Article: Ueber eine Einbettungsmethode für entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen LXV-LXVIII