

## A. Mikroskopische Untersuchungsmethode.

### I. Das Mikroskop und die mikroskopische Beobachtung.\*)

Von den verschiedenen Hilfsmitteln der mikroskopischen Untersuchungsmethode sind vor Allem ein einfaches und ein zusammengesetztes Mikroskop unentbehrlich.

Das einfache Mikroskop besteht der Hauptsache nach aus einer Linse  $MN$  (Fig. 123), welche die von einem vor derselben, innerhalb der Brennweite befindlichen Gegenstande  $AB$  ausgehenden Lichtstrahlen so bricht, dass sie auf der Netzhaut des Beobachters zu einem verkehrten Bilde ( $ab$ ) sich vereinigen, welches jedoch in gleicher Lage des Objectes, in scheinbar grösserer Entfernung, vergrössert,  $A'B'$  empfunden wird.

Eine solche Sammellinse, zweckmässig gefasst und zur bequemeren Verwendung meist mit einer Handhabe versehen, wird, wenn sie nur wenig (2-, höchstens 20mal) vergrössert, Lupe genannt.

Für unsere Zwecke sind die gewöhnlichen Taschenlupen ausreichend. Sie bestehen aus einer oder aus zwei (Duplex) bis drei (Triplex) planconvexen, in Metall, Elfenbein oder Horn gefassten Linsen. Wenn 2—3 Linsen vereinigt sind, wird allenfalls zwischen dieselben eine in der Mitte durchbrochene Metallscheibe (Diaphragma) eingeschaltet.

Soll die Lupe zum Präpariren benützt werden, so muss sie in ein passendes Gestell befestigt sein, damit sie in gehöriger Entfernung vom Objecte festgestellt werden kann.

Zu diesem Zwecke werden vielfach stärker vergrössernde Linsen verwendet, die an einem besonderen metallenen Gestell (Stativ) angebracht sind, welches ausser einer zur Aufnahme des Objectes bestimmten Platte (Objectisch) auch einen zweck-

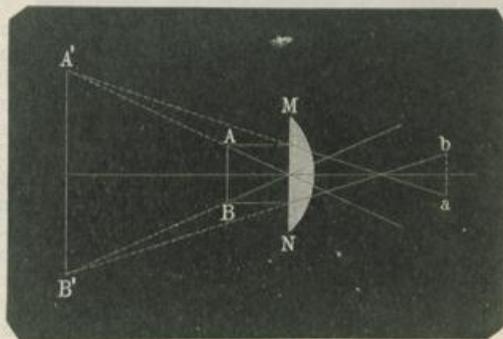


Fig. 123.

\* C. Nägeli und Schwendener, Das Mikroskop, Leipzig 1867. — H. Schacht, Das Mikroskop, Berlin 1855. — J. Wiesner, Einleitung in die technische Mikroskopie, Wien 1867. — W. Behrens, Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium, Braunschweig 1883. — Behrens, Leitfaden der botanischen Mikroskopie, Braunschweig 1890.

mässigen Beleuchtungsapparat besitzt. Solche Instrumente stellen das einfache Mikroskop, Simplex, im engeren Sinne dar. Sehr zweckmässig eingerichtete Präpariermikroskope werden jetzt von allen besseren Mikroskopfirmen geliefert.

Das zusammengesetzte Mikroskop, Compositum (Fig. 125), besteht zunächst aus zwei an einem im Inneren geschwärzten Metallrohre (*Tubus, R*) angebrachten Linsensystemen, von denen das eine, dem Gegenstande zugewendete, als Objectiv, das andere, dem Auge des Beobachters zugekehrte, als Ocular bezeichnet wird.

Das Objectiv (Fig. 124 *MM*) entwirft von dem gleich ausserhalb seiner Brennweite befindlichen Gegenstande *AB* ein verkehrtes und vergrössertes physisches (reelles) Bild *A'B'*, welches durch das Ocular *OO*, wie durch eine Lupe betrachtet, sich nochmals vergrössert, als scheinbares (virtuelles) Bild *A''B''* darstellt.

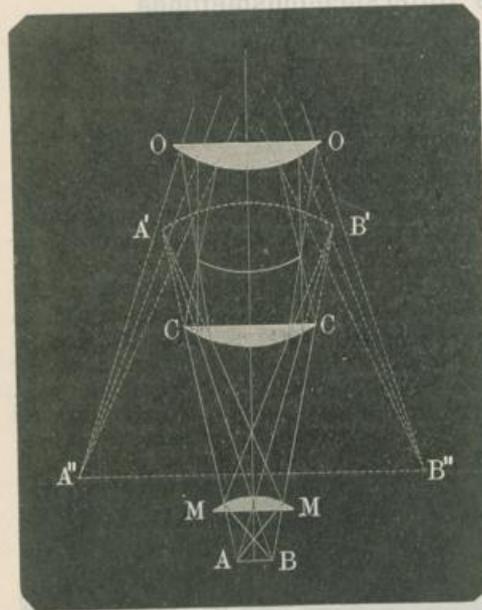


Fig. 124.

einer einfachen (nicht achromatischen) Frontlinse (d. i. die unterste Linse mit gegen das Object gekehrter planer Seite, gewöhnlich in vernickeltem Messing oder in Aluminium gefasst); die viergliedrigen bestehen von unten nach oben aus einer halbkugeligen einfachen Frontlinse, einer planconvexen oder biconvexen einfachen und zwei achromatischen Doppellinsen. Die Combination bei den achromatischen Linsen hat den Zweck, theils die chromatische und sphärische Aberration auf ein Minimum zu reduciren, theils die Lichtstärke des Bildes zu vergrössern.

Ausser den gewöhnlichen Trockensystemen sind für intensivere Untersuchungen auch sogenannte Immersionssysteme (Tauchsysteme) im Gebrauche, welche sich bei der Anwendung von jenen dadurch unterscheiden, dass man ihre Frontlinse in einen Tropfen destillirten Wassers (Wasser-Immersionssysteme) oder in einen Tropfen Cedernholzöl (Öel-Immersionen, Homogen-Immersionen) eintaucht, den man auf das Deckglas, respective auf die Frontlinse gebracht hat. Für die gewöhnlichen pharmakognostischen Untersuchungen sind diese Objectivsysteme, deren Leistungsfähigkeit man auf einen ausserordentlich hohen Grad der Vollendung gebracht hat, entbehrlich.

Das Ocular (Fig. 125 *Oc*), welches am oberen Ende des Mikroskoprohres (*R*) einfach eingeschoben wird, besteht aus zwei planconvexen, nicht achromatischen, in einer gemeinsamen Fassung angebrachten Linsen (Doppelocular), von denen die obere Ocular-, die untere Collectiv- oder Sammelglas genannt wird. Letztere hat vorzüglich den Zweck, die Lichtstärke des vom Objectiv entworfenen Bildes zu erhöhen und seine Krümmung auszugleichen (Fig. 124 *CC*). Zwischen beiden ist eine kreisförmig durchbrochene geschwärzte Metallscheibe (Diaphragma, Blende) angebracht.

Das am unteren Ende des Mikroskoprohres anzuschraubende Objectiv (Fig. 125 *Ob*) besteht bei den neueren Mikroskopen aus einem zwei- bis viergliedrigen Objectivsysteme. Die dreigliedrigen haben zwei achromatische (d. i. Doppellinsen aus einer biconvexen Sammellinse aus Crown- und einer planconcaven Zerstreuungslinse aus Flintglas) nebst

Das Mikroskoprohr (Tubus) ist an dem Gestelle (Stativ) so befestigt, dass seine Achse genau in die Mitte der in dem darunter angebrachten, zur Aufnahme des Untersuchungsobjectes bestimmten, meist viereckigen Objecttische (*T*) befindlichen Oeffnung (*X*) fällt. Der Tubus ist bei den gewöhnlichen Arbeitsmikroskopen aus zwei Stücken zum Einschieben und zum Ausziehen (wodurch die Vergrößerung gesteigert wird), also extrahierbar, construirt. Zum eventuellen Festhalten des Objectglases sind auf dem Objecttische zwei in seitliche Löcher einfügbare federnde Klammern (Objectklammern, *K*) angebracht.

Bei der Beobachtung müssen Object und Objectiv, je nach Umständen, bald einander genähert, bald voneinander entfernt werden. Zum Behufe dieser „Einstellung“ des Objectes ist seltener der Tisch, meist das Rohr beweglich gemacht. Bei vielen Mikroskopen, zumal den grossen, geschieht diese Bewegung durch ein Triebrad. Die gewöhnlichen Arbeitsmikroskope besserer Art haben eine doppelte Einstellung: eine grobe, welche durch sanfte schraubenförmige Bewegung des Rohres in der von der Mikroskopsäule (*S*) getragenen Hülse (*H*) geschieht, und eine feine mittelst der Mikrometerschraube (*M*), welche bald am oberen (in der Abbildung), bald am unteren Ende der Mikroskopsäule angebracht ist.

Eine sehr bequeme, viel Zeit ersparende Einrichtung ist das Revolverobjectiv, bei welchem, durch Vermittlung einer am unteren Ende des Tubus an Stelle des Objectives anschraubbaren Metallscheibe, mehrere Objective ohne jedesmaliges Ab- und Anschrauben der Reihe nach durch einfache Drehung oder Verschiebung zur Anwendung kommen können.

Mit dem Compositum untersucht man fast ausschliesslich im durchfallenden Lichte; der hiezu am Mikroskope eingerichtete Beleuchtungsapparat besteht aus einem Spiegel (*F*), und zwar haben alle besseren Mikroskope zugleich einen Planspiegel für schwächere und einen Hohlspiegel für stärkere Vergrößerungen, welcher unter dem Tische sich befindet und die aufgefangenen Strahlen durch dessen centrale Oeffnung (*X*) auf das Untersuchungsobject wirft, sowie aus der zur Regelung dieses Lichtes, namentlich um die überflüssigen und störenden Randstrahlen abzuhalten, in oder knapp unter der Tischöffnung angebrachten Blendvorrichtung (*B*).

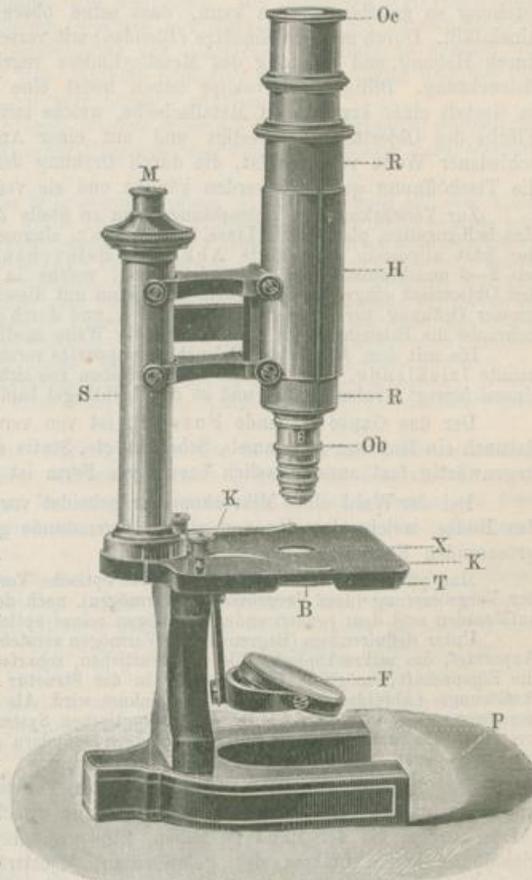


Fig. 125.

Arbeitsmikroskop von Merker & Ebeling in Wien,  
1/2 der wirkl. Grösse.

Bei allen neueren Mikroskopen ist der Spiegel nicht nur für centrale, d. i. gerade von unten nach der Tischöffnung gerichtete Beleuchtung um seine horizontale Achse beweglich, sondern auch derart eingerichtet, dass er zum Behufe schiefer Beleuchtung auch seitlich aus seiner Achse sich verschieben lässt.

Von den Blenden sind in neuerer Zeit am häufigsten üblich die sogenannten Cylinderblenden. Sie bestehen aus einem kurzen Metallrohre (Blendcylinder), welches am oberen Ende mit einer kreisrunden Oeffnung versehen ist und mittelst einer Schlittenvorrichtung unter der Tischplatte so verschoben und durch sanfte Drehung so gehoben werden kann, dass seine obere Oeffnung in die Tischöffnung hineinfällt. Durch mehrere Einsätze (Blenden) mit verschiedenen weiten Oeffnungen, sowie durch Hebung und Senkung des Metallcylinders regelt man zweckentsprechend die Beleuchtung. Billigere Mikroskope haben meist eine sogenannte Scheibenblende in Gestalt einer kreisrunden Metallscheibe, welche mit einem Knopfe an der unteren Fläche des Objecttisches befestigt und mit einer Anzahl von Oeffnungen von verschiedener Weite versehen ist, die durch Drehung der Scheibe der Reihe nach unter die Tischöffnung gebracht werden können und sie verkleinern.

Zur Verstärkung der Beleuchtung kann an Stelle der Blenden in den Blendcylinder eine halbkugelige, planconvexe Linse, Condensor, eingesetzt werden. Ausgezeichnetes leistet der jetzt allgemein eingeführte Abbé'sche Beleuchtungsapparat, im Wesentlichen aus 2—3 unachromatischen Linsen bestehend, welche in einer eigenen Vorrichtung unter den Objecttisch eingeschoben werden. Man kann mit dieser Vorrichtung Lichtkegel von sehr grosser Oeffnung zur Beleuchtung verwenden und durch eine an dem Apparate angebrachte Schraube die Beleuchtung in mannigfaltigster Weise modificiren.

Die mit dem Abbé'schen Beleuchtungsapparate versehenen Mikroskope haben die sogenannte Irisblende, bestehend aus einem System von sichelförmigen Metallscheiben, die auf einmal bewegt werden können und so den Lichtkegel bald vergrössern, bald verkleinern.

Der das Ganze tragende Fuss (*P*) ist von verschiedener Gestalt. Man pflegt darnach ein Hufeisen-, Trommel-, Scheiben- etc. Stativ zu unterscheiden. Die gefälligste, gegenwärtig fast ausschliesslich bevorzugte Form ist das Hufeisenstativ.

Bei der Wahl eines Mikroskopes entscheidet vor Allem die Schärfe und Klarheit des Bildes, welche dasselbe von einem Gegenstande gibt, nicht die Stärke seiner vergrössernden Kraft.\*)

Man pflegt die Leistungsfähigkeit (das optische Vermögen), abgesehen von der Stärke der Vergrösserung (dem Vergrösserungsvermögen), nach dem sogenannten definirenden, dem auflösenden und dem penetrirenden Vermögen seines optischen Apparates zu beurtheilen.

Unter definirendem (Begrenzungs-) Vermögen versteht man die Fähigkeit des optischen Apparates, das mikroskopische Bild mit deutlichen, scharfen Umrissen zu entwerfen, während die Eigenschaft, möglichst viele Details in der Structur zur Anschauung zu bringen, als Auflösungs- (Abbildungs-) Vermögen bezeichnet wird. Als Penetration oder Durchdringungsvermögen pflegt man jene Fähigkeit eines optischen Systems zu nennen, nicht nur die eingestellte Bildebene zur Anschauung zu bringen, sondern gleichzeitig auch andere, tiefere, allerdings jener nahe Bildebenen.

Das Mikroskop stellt man auf einen dem Fenster genäherten Tisch, auf welchem auch alle übrigen Hilfsmittel der Untersuchung zweckmässig angebracht werden, um Alles bequem bei der Hand zu haben. Eine grössere, mit Wasser gefüllte Tasse oder Schale ist zur Aufnahme der gebrauchten Objectträger, ein kleineres Gefäss zur Aufnahme der beschmutzten Deckgläschen bestimmt, während ein drittes Gläschen reines, stets zu erneuerndes Wasser zum Befeuchten der Objecte, der Messer etc. enthält.

Von Wichtigkeit für die Untersuchung ist die Beleuchtung; die beste gibt ein gleichmässig weiss bewölkter Himmel. Man vermeide directes Sonnenlicht, welches für die gewöhnlichen Untersuchungen mit durchfallendem Lichte ganz ungeeignet ist, abgesehen davon, dass es die Augen sehr schädigt. Muss man künstliche Beleuchtung benützen, so kann man eine Petroleum- oder Gaslampe nehmen, deren Licht durch

\*) Vorzügliche und preiswürdige Mikroskope liefern besonders: C. Zeiss in Jena, Seibert und Kraft, sowie Leitz in Wetzlar, Hartnack in Potsdam, Merz in München, Merker & Ebeling und Reichert in Wien.

eine zweckmässig angebrachte Scheibe oder Tafel von mattgeschliffenem Glase abgedämpft ist.

Während der Beobachtung bringt man das Auge so nahe als möglich an das Ocular, da man in dieser Art das grösste Gesichtsfeld hat und fremdes störendes Licht am besten ausschliesst. Man gewöhne sich dabei, beide Augen offen zu halten, beginne im Allgemeinen mit schwachen Vergrösserungen und steige allmählig zu den stärkeren. Erstere geben eine Uebersicht über das Ganze, erleichtern so wesentlich die Orientirung, während die letzteren uns über das Detail des Objectes aufklären. Beim Wechsel der Vergrösserungen gilt als Regel, die stärkeren Vergrösserungen nicht durch Combination schwacher Objective mit starken Ocularen hervorzubringen, sondern starke Objective mit Beibehaltung des schwächsten Oculars zu nehmen, und erst dann, wenn man bereits das stärkste Objectiv gewonnen hatte und die Vergrösserung noch steigern will, stärkere Oculare anzuwenden.

Den benützten Vergrösserungen müssen auch die Blendenöffnungen angemessen sein, derart, dass man bei schwacher Vergrösserung weite, bei starker Vergrösserung enge Oeffnungen nimmt.

Bei häufiger Benützung des Mikroskops empfiehlt es sich, dasselbe auf dem Tische nach beendeter Untersuchung mit einem Glassturze zu bedecken. Man halte es stets rein; Staub entfernt man von den Linsenflächen mit Hilfe eines feinen trockenen Haarpinsels, festsitzende Schmutzflecken am besten mit einem Lappen schon gebrauchter feiner, weicher Leinwand, den man mit etwas destillirtem Wasser oder nöthigenfalls mit etwas Weingeist anfeuchtet. Im letzteren Falle muss aber Vorsicht geübt werden, dass nicht etwas von der Flüssigkeit zwischen die Linsenfassung gelangt, wodurch der Kitt gelöst und das System beschädigt werden könnte. Bei Anwendung chemischer Reagentien vermeide man sorgfältig eine Berührung des Objectivs mit ihnen; hinreichend grosse Deckgläschen gewähren den besten Schutz; ist trotzdem die Linse mit dem Reagens in Berührung gekommen, so muss sie sofort durch Abspülen mit destillirtem Wasser und sorgfältige Abtrocknung davon gereinigt werden.

Für die Untersuchung von Wichtigkeit ist das Messen der unter dem Mikroskope eingestellten Objecte. Hiezu bedient man sich gegenwärtig fast ausschliesslich des Glasmikrometers, einer kreisrunden Glasscheibe in Metallfassung, in deren Mitte eine feine Linie von bestimmter Länge in eine Anzahl kleinerer Abschnitte mit der Diamantspitze abgetheilt ist.

Das Glasmikrometer wird in dem Oculare zwischen dem Ocular- und Collectivglase angebracht (Ocularmikrometer), indem man es einfach auf das dort befindliche Diaphragma mit der Scala nach abwärts auflegt. Um es verwenden zu können, muss man früher den Werth seiner Theilungen für die verschiedenen Linsensysteme und Combinationen kennen. Man verfährt hiebei in folgender Art. Ein anderes Glasmikrometer wird als Object eingestellt und beobachtet, wieviel Theilungen des Ocularmikrometers innerhalb des Zwischenraumes zweier aufeinander folgenden Theilstriche des als Object eingestellten Mikrometers fallen. Gesetzt es würden bei der Linsencombination  $A$  10 Theilungen des Ocularmikrometers  $\frac{1}{10} \text{ mm}$  des unteren entsprechen, so wird jede Theilung des ersteren  $\frac{1}{10} : \frac{1}{10} = \frac{1}{100}$  (0.01)  $\text{mm}$  oder 10 Mikromillimeter (1 Mikromillimeter =  $\mu = 0.001 \text{ mm}$ ) anzeigen. In gleicher Art bestimmt man den Werth der Theilungsabschnitte des Ocularmikrometers für die anderen Linsencombinationen und legt sich darüber eine Tabelle an. Will man nun die Dimensionen eines Objectes bestimmen, z. B. die Länge einer Zelle, so sieht man, wieviel Abschnitte des Ocularmikrometers bei scharfer Einstellung die Länge der Zelle decken und multiplicirt ihre Anzahl mit der für die eben verwendete Linsencombination gefundenen Constante.

Von grossem Vortheile ist das Zeichnen des Gesehenen. Es handelt sich hiebei darum, das mikroskopische Bild so genau als möglich wiederzugeben. Die hiezu construirten, meist kostspieligen Apparate, wie die Camera lucida, der Sömering'sche Spiegel, das Zeichenprisma, sind ganz überflüssig, wenn man sich das Doppelsehen, das heisst das Offenhalten beider Augen beim Mikroskopiren angewöhnt. Bei einiger Uebung geht das leicht. Sieht man mit dem linken Auge in das Mikroskop

auf das eingestellte Object und gleichzeitig mit dem rechten Auge auf ein zur Seite gelegtes Blatt weissen Papiere, so erscheint das Gesichtsfeld mit dem Bilde des Objectes auf letzteres projectirt und man kann bei unverrückter Haltung der Augen mit einem Bleistift die Umrisse des Bildes genau zeichnen.

Das Doppelsehen kann man auch dazu benützen, um die Vergrösserungen zu bestimmen, welche das benützte Mikroskop liefert, indem man das Glasmikrometer als Object einstellt und dasselbe auf einem zur Seite des Mikroskopes in der Ebene des Objectisches gelegten Masstab projectirt. Gesetzt, es würde bei der Linsencombination *A* 0.1 mm des Glasmikrometers 10 mm des Masstabes decken, so wird für diese Combination die Vergrösserung = 100 sein, was man mit 100/1 zu bezeichnen pflegt; bei der Combination *C* würde 0.1 mm des Glasmikrometers 6 cm des Masstabes entsprechen, die Vergrösserung wäre alsdann 600/1 u. s. w.

## II. Die Präparation.

Die zu untersuchenden Gegenstände sind selten einer unmittelbaren mikroskopischen Beobachtung zugänglich, die meisten müssen vielmehr hiezu geeignet vorbereitet, präparirt werden.

Die Präparation ist sehr mannigfaltig und richtet sich nach der Natur des betreffenden Untersuchungsobjectes. Im Allgemeinen besteht sie zunächst in der Anfertigung feiner Schnitte, im Zerreißen, Zerdrücken, Auswaschen etc. Hiezu sind mechanisch trennende Instrumente, verschiedene Glasgeräthe etc. erforderlich.

Zur Anfertigung von Durchschnitten aus grösseren Pflanzentheilen, wie Rinden, Hölzern, Wurzeln, bedient man sich einer kleinen Säge, zur Herstellung mikroskopischer Schnittblättchen am besten Rasiermesser, allenfalls auch Scalpelle. Für harte Gegenstände (Hölzer, Rinden, Samenschalen etc.) müssen flache, nicht hohl geschliffene, im Durchschnitte keilförmige Messer mit starkem Rücken genommen werden; für weiche, saftige und dünne Objecte (Blätter, Blüten etc.) wendet man leichtere, hohl geschliffene Messer an. Das Messer muss stets rein und scharf erhalten werden; man reinigt es nach jedesmaligem Gebrauche mit einem hiezu bestimmten Zeuglappen und zieht es fleissig am Streichriemen ab.

Zum Schleifen der Messer, wenn man sich aus Ersparungsrücksichten dieser zeitraubenden Manipulation selbst unterziehen will, müssen Schleifsteine verschiedener Feinheit vorräthig gehalten werden. Beim Schleifen ist das Messer flach aufzulegen, langsam und sicher, ohne fest aufzudrücken und ohne die Messerfläche zu wenden, zu ziehen. Die Schleifsteine wendet man natürlich derart an, dass man vom grösseren allmählig zum feineren übergeht.

Zum Zerschneiden zarterer Theile, z. B. Blätter, ist eine kleine Scheere mit geraden Schenkeln oft zweckmässig, kann aber in der Regel durch ein Scalpell ersetzt werden. Zum Trennen und Isoliren der Gewebelemente, sowie zu verschiedenen anderen Zwecken dienen feine gerade Präparirnadeln, von denen man mindestens zwei benöthigt. Hiezu kann man im Nothfalle eine gewöhnliche stärkere Nadel benützen, wenn man sie mit einem hölzernen Stiele versieht, in welchem sie unbeweglich festsetzt. Die Nadelspitze muss möglichst fein sein und stets rostfrei erhalten werden. Ist sie stumpf oder rostig geworden, so schleift man sie an einem mässig feinen Steine unter häufigem Umdrehen ab.

Zum Fassen kleiner Gegenstände bedient man sich einer feinen Stahlpincette mit glatten Flächen an beiden Seiten der Spitzen, zum Aufsaugen von Flüssigkeiten, Uebertragen, Auswaschen etc. der Objecte gewöhnlicher Malerpinsel. Zum Kochen, Maceriren, Auslaugen etc. werden Glas- und Porzellanschalen, Glasdosen, Uhrgläser, Kochkolben, Kochbecher, Proberöhrchen, Spritzflasche, eine kleine Reibschale, Spirituslampe mit Dreifuss etc. erfordert.

Zur Aufnahme des Untersuchungsobjectes dienen die Objectträger\*), länglich

\*) Man pflegt längeres (76 × 26 mm), sogenanntes englisches Format, und kürzeres (48 × 28 mm), sogenanntes deutsches Format, zu unterscheiden. Ersteres ist unbedingt vorzuziehen.

viereckige, aus reinem, farblosen Glase gefertigte und am Rande abgeschliffene Platten, von denen man eine grössere Anzahl vorrätzig hält. Die Objecte werden auf denselben, meist in einem Tropfen einer Flüssigkeit (Wasser, Oel, Glycerin etc.) gelegt, mit einem dünnen quadratischen (oder kreisrunden) Glastäfelchen, Deckgläschen, bedeckt. Bei der Anwendung von Säuren empfehlen sich grössere Deckgläschen.

Von allen Präparationen ist die Schnittführung die wichtigste. Als allgemeine Regel gilt für dieselbe, dass man das Messer ganz flach auflege und langsam, ohne abzusetzen, mit sicherer Hand gegen sich ziehe, nicht drücke. Größere und härtere Gegenstände schneidet man frei zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, wobei man Messer und Object früher mit Wasser befeuchtet. Dünne, zarte Theile, z. B. Blätter, schiebt man zwischen die beiden Hälften eines der Länge nach durchschnittenen Korkstöpsels oder eines Hollundermarkcylinders ein und schneidet dann, indem man mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand das Ganze festhält, möglichst dünne Korklamellen aus der Mitte, die dann ebenso dünne Schnittblättchen des eingeschobenen Gegenstandes enthalten.

Zum Festhalten kleiner Objecte, z. B. Samen, bedient man sich zweckmässig eines Stückes Stearin, in welchem man eine dem Gegenstande entsprechende Vertiefung anbringt, diesen hineinlegt und mittelst der erhitzten Nadel darin einkittet. Nach dem Erstarren des Stearins kann man bequem die feinsten Schnitte anfertigen. Noch kleinere Objecte werden mit dicker Gummilösung auf ein Stück glatten Korkes aufgetragen und nach dem Austrocknen der Masse leicht daraus die feinsten Durchschnitte erzielt, die man zur Lösung des Gummi in einem Wassertropfen suspendirt.

Manche Pflanzentheile sind in getrocknetem Zustande so spröde, oder es ist der Zusammenhang ihrer Gewebe so gelockert, dass es nicht möglich ist, ohne Weiteres zusammenhängende Schnittblättchen aus ihnen zu erhalten (z. B. manche Rinden und Wurzeln). In solchen Fällen führt mehrtägiges Aufweichen in Wasser, beziehungsweise Tränkung der Schnittfläche mit Gummilösung und Trocknung, oder Injection von geschmolzenem Stearin, welches man später auf dem Objectträger mit Aether oder Benzin entfernt, zum Ziele.

Beim Isoliren der Gewebe und ihrer Formbestandtheile nehme man nur geringe Massen auf den Objectträger und lasse sich die Mühe eines möglichst sorgfältigen Zerpupfens mit den Nadeln nicht verdrriessen.

Zur Entfernung der in den Objecten meist sehr reichlich vorhandenen, die Beobachtung sehr störenden, selbst unmöglich machenden Luft legt man die Schnittblättchen, wenn dies zulässig ist, in starken Alkohol und sodann in destillirtes Wasser; wo Alkohol vermieden werden muss, z. B. wegen lösender Einwirkung auf gewisse zu studierende Inhaltstoffe, wie Oele und Harze, genügt oft längeres Einlegen in ausgekochtes destillirtes Wasser oder Aufkochen in Wasser. Am wirksamsten und zweckmässigsten erweist sich die Anwendung der Wasserstrahl- (oder Quecksilber-) Luftpumpe, wenn eine solche bei der Hand ist. Es genügt in der Regel, die Schnitte in einem Schälchen mit Aqua destillata unter dem Recipienten der Wirkung der Luftpumpe durch etwa eine halbe Stunde auszusetzen, um aus den luftreichsten Schnitten sämtliche Luft zu beseitigen.

### III. Mikrochemische Reagentien. \*)

Die einfache mikroskopische Betrachtung des auf mechanischem Wege präparirten Pflanzentheils genügt oft nicht, um uns eine genügende Kenntniss von seiner Structur zu gewähren. Namentlich erlangen wir hiedurch oft gar keine oder nur

\*) F. A. Flückiger, Grundlagen der pharmac. Waarenkunde. Berlin 1879. — V. A. Poulsen, Botanische Mikrochemie. Aus dem Dänischen von C. Mäller. Cassel 1881. — E. Nickel, Die Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890. — Behrens, Hilfsbuch etc. siehe pag. 527. und Behrens, Tabellen zum Gebrauche bei mikroskopischen Arbeiten. Braunschweig 1887. — H. Molisch, Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel. Jena 1891. — E. Strasburger, Das botan. Practicum. Jena 1884.

unzureichende Aufschlüsse über die Bau- und Inhaltsstoffe der Gewebelemente. Um uns über diese genügend zu orientiren, wird es nothwendig, das Präparat der Einwirkung verschiedener, zumal chemischer Agentien auszusetzen und die durch dieselben erzeugten Veränderungen unter dem Mikroskope zu beobachten.

Bei dieser mikrochemischen Untersuchung müssen uns die Grundsätze der makrochemischen Forschung leiten, sowie die Resultate der chemischen Analyse des betreffenden Pflanzentheiles den Weg vorzeichnen, den wir zur Erlangung der gewünschten Erkenntniss einzuschlagen haben.\*)

Makro- und Mikrochemie ergänzen und controliren sich gegenseitig. Das Mikroskop ist, wie Schlossberger bereits 1844 (W. et L. Annal. B. 51, 197) hervorhebt, dem Chemiker, der eine Pflanzenanalyse vornimmt, ebenso unentbehrlich wie die Kenntniss der Zusammensetzung der Pflanzen und der Wirkungsweise chemischer Agentien überhaupt dem Phytohistologen. Erst wenn unsere Untersuchungen in histologischer und chemischer Richtung gleich vollständig und gleichsam zu einem Ganzen verschmolzen sind, können wir von einer Pflanze, respective von einem Pflanzentheile sagen, dass wir sie kennen. Die chemische Analyse einer Pflanze gibt uns an, welche chemische Verbindungen und in welcher Menge sie vorkommen; durch die histologische Untersuchung erfahren wir, in welchen Organen, Geweben und Gewebelementen, in welchen relativen Verhältnissen und in welchem Zustande diese Verbindungen auftreten.

Die Methode der Anwendung chemischer Mittel unter dem Mikroskope ist im Allgemeinen dieselbe wie ohne dieses Instrument.

Kein Mensch, sagt Rochleder (Anleitung zur Analyse von Pflanzen, Würzburg 1858), glaubt, dass man einfachere Methoden bei einer chemischen Analyse in Anwendung bringen und sich mancher Reagentien entschlagen könne, wenn man Brillen dazu aufsetzt. Ein Mikroskop ist aber eben nichts als eine Brille, die uns gestattet, Dinge wahrzunehmen, die wir mit freiem Auge wegen ihrer Kleinheit nicht sehen können; es erspart uns keine chemische Operation und kein chemisches Reagens, so wenig als eine Brille einem kurz-sichtigen oder weitsichtigen Chemiker derlei zu ersparen im Stande ist.

Die nachfolgende Zusammenstellung enthält die bisher gebräuchlichsten Mittel zur mikrochemischen Untersuchung.

1. Destillirtes Wasser; 2. Alkohol von verschiedener Concentration, jedenfalls absoluter Alkohol; 3. Aether; 4. Benzol; 5. Kaliumhydroxyd in concentrirter wässriger Lösung (Kalilauge); 6. Kaliumhydroxyd in Alkohol gelöst (Kalialkohol); 7. Aetzammoniak; 8. Kalkwasser; 9. Bleiessig; 10. concentrirte reine Schwefelsäure; 11. verdünnte Schwefelsäure (3 Th. concentrirter Schwefelsäure, 1 Th. Aq. dest.); 12. concentrirte reine Salpetersäure; 13. Salzsäure; 14. Chromsäurelösung, concentrirte (1:6 Aq. dest.) und verdünnte (1%ige); 15. concentrirte Essigsäure; 16. Osmiumsäurelösung ( $\frac{1}{10}$ —1%ige wässrige); 17. Oxalsäurelösung (wässrige oder alkoholische); 18. Jod in Substanz, resp. Jodwasser (einige Krystallblättchen Jod in Aq. dest.); 19. Jodsolution (3 Th. Jodkalium, 1 Th. Jod, 60—500  $cm^3$  Aq. dest.); 20. Jodtinctur der Apotheken; 21. Jodglycerin; 22. Chlorzink-Jodlösung (metallisches Zink in Salzsäure gelöst, die Lösung zur Syrupconsistenz eingedampft, darin Jodkalium bis zur Sättigung aufgelöst und dem Ganzen noch metallisches Jod zugesetzt); 23. Jodkalium-Jodquecksilber (Lösung von 1.35 Quecksilbersublimat und 5.0 Jodkalium in 100.0 Aq. dest., Flückiger); 24. Millon's Reagens (salpetersaures Quecksilberoxydul-Oxyd; Auflösung von Quecksilber in gleichen Gewichtstheilen rauchender Salpetersäure und die Lösung mit gleichen Volumtheilen Aq. dest. versetzt); 25. Sublimatlösung (1—2:100—500 Aq. dest. oder Spirit. Vini); 26. Kupferoxyd-Ammoniak (Cuoxam; Kupfervitriollösung durch kohlen-saures Natron gefällt, der Niederschlag von kohlen-saurem Kupferoxyd gewaschen, getrocknet und in einem gut schliessenden Pulverglase aufbewahrt. Zum jeweiligen Gebrauche nimmt man eine Messerspitze des Pulvers und löst in einer hinreichenden Menge von Aetzammoniak auf. Einfacher stellt man sich das Reagens dar durch Uebergiessen von Kupferspänen mit Aetzammoniak). 27. Eisenchloridlösung (wässrige: der offic. Liquor Ferri

\*) Vergl. auch A. Vogl, Vorlesungen über mikroskopische Untersuchungsmethoden etc. Zeitschr. des allg. Oesterr. Apoth. Ver. II. 1866.

sesquichlorati mit circa 5 Th. Wasser verdünnt; alkoholische: 1 Th. Liquor Ferri sesquichlorat. mit 5 Th. absoluten Alkohol); 28. Kupferacetatlösung (gesättigte wässrige Lösung); 29. Kupfervitriollösung; 30. Oleum Terebinthinae rectificatum; 31. Oleum Caryophyllorum; 32. Oleum Olivae optimum; 33. Glycerin; 34. chlorsaures Kalium in Substanz; 35. Lösung von molybdaensaurem Ammoniak in Salmiak (10·0 Ammon. chlorat., 1·0 Ammon. molybdaenic., 30·0 Aq. dest., Braemer 1891); 36. Cochenilleauszug (eine Messerspitze fein gepulverter Cochenille wird in einem Proberöhrchen mit der fünf- bis achtfachen Menge kalten destillirten Wassers einige Minuten lang geschüttelt, filtrirt und das Filtrat behufs der Haltbarkeit mit einigen Tropfen Carbollösung versetzt); 37. Cochenille-Glycerin (Mischung von Nr. 36 mit Glycerin). Statt desselben kann Karmin-Ammoniak benützt werden (nach Hartig: käuflicher Carmin in Aq. dest. gelöst, Lösung filtrirt, zur Trockene eingedampft. In wässriger Lösung verwendet); 38. Borax-Carmin (2·0 Borax in 28  $cm^3$  Aq. dest. gelöst und 0·5 Carmin in pulv. zugesetzt, die Lösung mit 60  $cm^3$  absolutem Alkohol versetzt und filtrirt. 39. Alaun-Carmin (1·0—5·0 Kalialaun und 0·5—1·0 Carmin in pulv. in 100  $cm^3$  Aq. dest. gelöst); 40. Beale'scher Carmin (0·6 Carmin in pulv. mit 2·3  $cm^3$  Aetzammoniak erwärmt, nach 1 Stunde mit 66  $cm^3$  Wasser, 47·5  $cm^3$  Glycerin und 19  $cm^3$  absolutem Alkohol versetzt und filtrirt); 41. Säure-Carmin (50  $cm^3$  Spirit. Vin. dilut. und 3 Tropfen Salzsäure mit 1 Messerspitze voll Carminpulver 10 Minuten gekocht und nach dem Erkalten filtrirt, Grenacher); 42. Fuchsinlösung (oder Anilinblaulösung) in Wasser oder absolutem Alkohol (1:100); 43. Fuchsin-Methylviolettösung (Hanstein: Von einer Mischung aus gleichen Theilen Fuchsin und Methylviolett, welche gepulvert aufbewahrt wird, eine concentrirte Lösung in absolutem Alkohol, welche man nach Erforderniss verdünnt); 44. Methylgrün-Essigsäure (Strasburger: nicht zu concentrirte Lösung von Methylgrün in 1%iger Essigsäure); 45. Friedländer's Haematoxylinlösung (Haematoxylin, Alumen aa 1, Glycerin, Alkohol, Aq. aa 50); 46. Eosin in schwacher wässriger Solution; 47. Anilinsulfat in concentrirter wässriger oder alkoholischer Lösung; 48. Lösung von Phloroglucin in Wasser oder Alkohol (circa 1—5% ig); 49. Alkannatinctur (erhalten durch Schütteln einer Partie der zerkleinerten braunrothen Aussenschichten von Radix Alkannae mit concentrirtem Alkohol und Filtriren).

Von sonstigen Mitteln sind noch zu erwähnen: gesättigte wässrige Kaliumacetatlösung, Alaunlösung (5%), Chlorhydratlösung (5:2 Aq. dest.) ohne und mit Jod, Ferrocyankalium in wässriger Lösung, Säure-Alkohol (97 Th. Spirit. Vin. conc., 3 Th. Acid. hydrochloricum und etwas Pikrinsäure, als Fixirungsmittel von A. Meyer empfohlen), Silbernitratlösung (0·5—3%), alkoholische Phenollösung, Kreosot oder Guajakol, Canadabalsam und speciell als Tinctionsmittel, ausser den obigen, Haematoxylinlösung (alcoh.), Pikrinsäurelösung (aquis. oder spirit.), Säure-Fuchsin, Nigrosin, Methylgrün-, Methylenblau-, Vesuvin-, Safraninlösung (wässrige), Gentianaviolettösung (alcohol).

Die Tinction pflanzlicher Präparate hat in den letzten Jahren einen ausserordentlichen Aufschwung erfahren. Die Zahl der zur Tinction herangezogenen Mittel ist jetzt schon eine sehr grosse und nimmt sozusagen täglich zu. Insbesondere das intensivere Studium des Protoplasmakörpers, speciell auch des Zellkernes und anderer Abkömmlinge des Protoplasmas in dem letzten Decennium hat zur Ausbildung des Färbungsverfahrens auch in der botanischen Histologie und zur Vermehrung der hiezu verwendeten Mittel geführt. Für unsere Zwecke reichen einige wenige Tinctionsmittel aus. Sie sind in dem obigen Verzeichnisse gleich den kaum zu entbehrenden anderen mikrochemischen Reagentien durch fette Schrift ersichtlich gemacht.

Die Färbung bei der Anwendung eines der Tinctionsmittel betrifft entweder alle Theile des Schnittes, oder es werden nur bestimmte Gewebe, Gewebs-elemente oder Inhaltsstoffe gefärbt. Man spricht deshalb im ersteren Falle von einer diffusen, im letzteren Falle von einer differentiellen Färbung. Eine diffuse Färbung kann übrigens unter Umständen, z. B. durch Auswaschen oder Einwirkung gewisser Mittel zu einer differentiellen werden, indem das Pigment aus gewissen Theilen entfernt wird, während andere Partien es hartnäckig zurückhalten. Vielfach angewendet und sehr instructiv sind Doppelfärbungen, die man entweder durch aufeinanderfolgende Behandlung des Objectes mit zwei verschiedenen Tinctionsmitteln oder mit einem Gemisch von zwei Farbstoffen zu Wege bringt.

Ein Theil der hier aufgezählten Mittel sind chemische Reagentien im eigentlichen Sinne, einige davon dienen hauptsächlich nur zum Auswaschen (Auslaugen), oder zur Aufnahme des Objects bei der Untersuchung (Wasser, Glycerin, fettes Oel u. a.) und zur Aufbewahrung der Präparate (Glycerin, Lösung von Kaliumacetat, Canadabalsam etc.), andere sind bestimmt zum Aufschliessen und Aufhellen verschiedener Objecte (Kalilauge, Ammoniak, Kalialkohol, Chloralhydrat, Nelkenöl, Kreosot, Guajakol etc.), zum Härten, zur Maceration, noch andere bezwecken durch Färbung gewisse Bestandtheile, Inhaltsstoffe, Structurverhältnisse etc. deutlicher hervortreten oder erst sichtbar zu machen (die oben verzeichneten Farbstofflösungen). Man kann die zuletzt erwähnten Mittel physikalische oder morphologische Reagentien nennen. Selbstverständlich gehören manche Mittel zu beiden Kategorien, z. B. Kupferoxyd-Ammoniak, Chlorzinkjod, verdünnte Schwefelsäure etc., wie überhaupt zwischen beiden keine bestimmte Grenze zu ziehen ist.

Die flüssigen Mittel bringt man in den jetzt allgemein üblichen Stöfflächchen unter, wodurch ihre tropfenweise Anwendung wesentlich erleichtert ist. Die concentrirten Säuren sind in mit einer Glaskappe versehenen Stöfflächchen unterzubringen. Die Jodmittel und Osmiumsäure sind vom Lichteinflusse möglichst zu bewahren.

Das zu untersuchende Object, z. B. ein Schnittblättchen, kommt entweder direct in einem Tropfen des anzuwendenden Mittels, den man auf den Objectträger aufträgt, oder man lässt das Reagens vom Rande des Deckgläschens aus auf das Präparat einwirken. Letzteres geschieht namentlich dann, wenn man die allmälige Einwirkung des Mittels studiren will.

Das Erwärmen und Kochen mikroskopischer Objecte geschieht entweder im Uhrschildchen, Proberöhrchen etc. oder direct auf dem Objectträger, indem man auf diesem das Präparat in einen Tropfen der betreffenden Flüssigkeit (z. B. Kalilauge, Wasser, Alkohol etc.) bringt, mit einem Deckgläschen bedeckt und dann den Objectträger vorsichtig über einer schwachen Weingeistflamme erwärmt. Bevor man die durch die Einwirkung der Wärme erzielte Veränderung am Präparate weiter unter dem Mikroskope prüft, muss die Objectplatte vollkommen abgekühlt sein; meist wird hiebei das Deckgläschen gewechselt werden müssen. Zweckmässig bedient man sich bei diesem Vorgange grösserer Deckgläschen und zum Halten des Objectträgers bei dem Erwärmen einer Zange, deren abgeflachte Armenden an der Innenfläche mit Asbest belegt sind.

Häufig wird es nothwendig, mikroskopische Objecte (z. B. Schnittblättchen) auszuwaschen. Es geschieht dies entweder auf dem Objectträger mit Pinsel und Spritzflasche oder durch Uebertragung des Objectes in ein mit destillirtem Wasser, Alkohol etc. gefülltes Glasschildchen, eine Glastasse u. dgl.

Bei Anwendung starker Säuren, besonders der Salz- und Salpetersäure, deren Dämpfe die Linsen angreifen, sei man sehr vorsichtig bei der Einstellung, wende womöglich grössere Deckgläschen an, und reinige nach jeder Untersuchung sorgfältigst die Frontlinse des Objectives.

Zur Isolirung der Gewebelemente wendet man die Maceration an bei gewöhnlicher oder erhöhter Temperatur. Nicht verholzte Gewebe macerirt man selten durch Faulenlassen der betreffenden Pflanzentheile, häufiger durch Kochen in reinem oder mit verdünnten Säuren oder mit Kalilauge versetztem Wasser.

Verholztes Gewebe erfordert die Anwendung der Chromsäure oder am besten das Verfahren von Schulze, darin bestehend, dass man kleine Stücke des betreffenden Theiles mit ungefähr gleichen Volumtheilen chloresäurem Kalium mengt, und in einem Proberöhrchen mit concentrirter Salpetersäure über der Weingeistlampe erwärmt, bis rothbraune Dämpfe sich entwickeln, worauf man die macerirten Stückchen in destillirtem Wasser und Alkohol auswäscht. Diese Macerationsmethode muss in einem vom Mikroskope getrennten Raume vorgenommen werden.

Will man mikroskopische Präparate aufbewahren oder will man sich eine Sammlung derartiger Präparate anlegen, so muss man dieselben auf dem Objectträger

unter dem Deckgläschen in eine Flüssigkeit bringen, welche nicht leicht verdunstet oder aber diese durch einen luftdichten Verschluss vor Verdunstung schützen. In ersterer Hinsicht dient ein Tropfen Glycerin, in welchen man am Objectträger das Präparat bringt, mit dem Deckgläschen bedeckt und dieses allenfalls mit zwei Streifen gummirten Papiere befestigt.

Für eine provisorische Aufbewahrung eignet sich diese Methode ganz gut oder man wendet als Aufnahmsmittel Glyceringelatine, Kaliumacetatlösung etc. an. Für eine Präparatensammlung benützt man als Aufnahmsflüssigkeit destillirtes Wasser mit Zusatz von Glycerin oder eines der obigen Mittel, und zum Verschluss am besten eine dicke Lösung von feinem Sieglack in Weingeist, Asphaltlack oder eines der zahlreichen anderen käuflichen Verschlussmittel. Man verfährt hiebei in folgender Weise: Auf das sorgfältig gereinigte Objectglas bringt man in einem Tropfen der Aufnahmsflüssigkeit das betreffende Präparat und bedeckt es mit dem sorgfältig gereinigten Deckgläschen, wobei man darauf achtet, dass kein luftgefüllter Raum zwischen den beiden Glastafeln bleibt, sondern der Zwischenraum von der Flüssigkeit ganz ausgefüllt wird. Ist etwas von der letzteren am Rande des Deckgläschens hervorgetreten, so entfernt man sie sorgfältig mit einem Stückchen Filtrirpapier. In jedem Falle lässt man das so hergestellte Präparat  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde unter einer Glasglocke liegen, damit der Rand des Deckgläschens vollkommen trocknet, worauf man das Ganze dem Rande des Deckgläschens entlang mit einem starken Walle der zähflüssigen Sieglacklösung (oder mit dem sonst gewählten Verschlussmittel) umgibt. Auf einem Objectträger kann man bei englischem Formate zwei Präparate unterbringen. Ein an der Seite angebrachter Papierstreifen wird zur Signatur benutzt. In 1—2 Wochen trocknet der Lack zu einer vollkommen homogenen, glatten und harten Masse ein, welche einen völlig luftdichten Verschluss bewirkt; die etwa schlecht ausgefallenen oder nachträglich verdorbenen Präparate bringt man in Alkohol, welcher den Lack auflöst und die Gläschen wieder brauchbar macht.

## B. Allgemeines über den Bau der Pflanzentheile.\*)

### I. Die Pflanzenzelle.

Das Elementarorgan der Pflanze, die Zelle (cellula), stellt in ihrem entwickelten Zustande (Fig. 126) ein sehr verschiedenes, in der Regel mikroskopisch kleines Hohlgebilde dar, dessen feste Hülle, die Zellwand (Zellhaut, Zellmembran *m*) einen in chemischer und physikalischer Beziehung mannigfach zusammengesetzten Inhalt umschließt.

In ihrem ursprünglichen Zustande ist die Zelle ein Klümpchen farbloser, schleimig-körniger, an Eiweißstoffen reicher Substanz, Plasma (Protoplasma). Die homogene, schleimig-zähflüssige, farblose Grundsubstanz desselben wird als Hyaloplasma bezeichnet, die darin eingetragenen kleinsten Körnchen als Mikrosomen (Mikrosomata). Jede, auch die am höchsten entwickelte Pflanze, beginnt mit einer solchen hüllenlosen Primordialzelle. Bald jedoch umgibt sich die Plasmamasse mit einer wesentlich aus Zellstoff bestehenden Hülle; gleichzeitig erfährt sie in ihrer

\*) W. Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle. Allgem. Morpholog. der Gewächse. I. Bd. des Handb. der physiol. Botanik. Leipzig 1865. — A. de Bary, Vergleichende Anat. der Veget. Organe der Phanerogamen und Farn. Leipzig 1877. III. Bd. des Handb. der physiol. Bot. — J. Sachs, Lehrb. der Botanik. 4. Aufl. Leipzig 1874. — E. Strasburger, Das botan. Practicum. Jena 1884. — G. Haberlandt, Physiolog. Pflanzenanatomie. Leipzig 1884. — W. Detmer, Das pflanzenphysiol. Practicum. Jena 1888. — E. Strasburger, Ueber das Wachstum vegetabilischer Zellhäute. Jena 1889. — A. Tschirch, Angewandte Pflanzenanatomie. Wien und Leipzig 1889. — J. Wiesner, Anat. u. Physiol. der Pflanzen. 3. Aufl. Wien 1890. — A. Zimmermann, Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Breslau 1887, und Beiträge zur Morph. und Physiologie der Pflanzenzelle. Heft I und II. Tübingen 1890.