

des Verstärkers des Katodenosiloskopos verkleinert. An der Austrittspupille des Mikroskopprojektivs befindet sich ein kleiner, mit einer Aluminiumoberfläche versehener Spiegel, der an dem von der Netzfrequenz gespriesenem Vibrator befestigt ist. Die Ablenkplatten der Zeitbasis des Oscillographen sind mit derselben Frequenz gespriesen. Durch den Wechselstrom entsteht eine kleine schwingende Bewegung des Spiegels und auch das Bild, das auf die mit der Photometeröffnung versehenen Platte projiziert wird, ist in Schwingung gebracht. Die am Oszillographen gewonnene Kurve zeigt die Unterschiede in der Durchlässigkeit der einzelnen Stellen des Bildes. Bei richtiger Wahl der Wellenlänge des Lichtes werden selbst kleine Unterschiede in der Durchlässigkeit des beobachteten Objektes sichtbar.

Um optimale Ergebnisse zu erzielen, ist es empfehlenswert, das Köhler-Beleuchtungsprinzip mit einer Leuchtfeldblende von kleinem Durchmesser anzuwenden. Der Durchmesser hängt von der Größe des Objektes ab, das man einstellt. Das Objekt wird von monochromatischem Licht beleuchtet. Die gewählte Wellenlänge stimmt mit dem Absorptionsmaximum des Objektes überein. Mit Hilfe der beschriebenen experimentellen Methode wurden eine Reihe von Messungen an verschiedenen Objekten durchgeführt (mikroskopische Schnitte von 3, 5, 10, 20 und 30  $\mu$  Dicke, ferner isolierte Kerne und Zellen). Das auf diese Weise eingestellte Objekt kann besser eingestellt werden, als dies bei der üblichen Art der Fall ist. Interessant ist die Veränderung des Kurvenbildes auf dem Oscillographen, wenn das Objekt von der Fokusebene nach oben oder nach unten entfernt wird. Bei isolierten Objekten (Zellen und Kernen) oder bei Objekten, deren Absorption sich merklich von ihrer Umgebung unterscheidet, lassen sich drei Ebenen unterscheiden: eine

obere, ferner die Ebene der optimal scharfen Einstellung und eine untere Ebene. Da die Dicke des gemessenen Objektes von der Distanz der oberen und unteren Fokusierungsebene bestimmt wird, kann diese Tatsache zur Bestimmung der Dicke ausgenutzt werden. Die Bestimmung der oberen und unteren Fläche des Präparates mittels der üblich angewandten Fokusierungsmethode ist meist ungenau und weist beträchtliche subjektive Fehler auf. Wir haben mit Erfolg die vorgeschlagene Methode zum Beispiel bei Bestimmung der Dicke von mit Feulgenreaktion gefärbten Kernen in Leberschnitten angewandt (LODIN et al.<sup>3</sup>). Die beschriebene Einrichtung kann leicht in ein Zytophotometer eingebaut werden.

*Summary.* A method is described which enables the observed picture to be focused objectively. The validity of the method was tested by focusing the picture which appears in the field of the microscope. The significance of the device consists in the possibility of using it for cytophotometric purposes. The construction allows it easily to become part of the cytophotometer set.

J. PILNÝ, Z. LODIN  
und J. HARTMAN

*Physiologisches Institut, Abteilung Zytphysiologie und  
Histochemie der Nervenzelle,  
Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften,  
Prag (ČSSR) 11. Juni 1965.*

<sup>3</sup> Z. LODIN, J. PILNÝ, V. NOVÁKOVÁ, J. HARTMAN und F. MED,  
Act. histochem., Suppl. VI, 215 (1965).

## Kryostatschnittechnik für natives Pflanzengewebe

Histochemische Untersuchungen an Pflanzengewebe gewinnen in den letzten Jahren immer mehr an Interesse<sup>1</sup>. Wesentlich ist eine geeignete Präparations- und Schnitttechnik. Die Anwendung der für tierisches Material viel gebrauchten Kryostatmethode auf Pflanzengewebe blieb bis jetzt beschränkt. CHAYEN et al.<sup>2</sup> gelang es, brauchbare Kryostatschnitte nach Vorbehandlung mit PVA herzustellen. Eine Einbettung in Gelatine führte ebenfalls zum Erfolg<sup>3</sup>. Die Herstellung von Kryostatschnitten von nativem Pflanzenmaterial verlief jedoch nur für stark verholzte Gewebe erfolgreich<sup>4</sup>.

Eine Einbettung in Gehirn verhindert das Zerreissen der Pflanzengewebe während des Einfrierens und Schneidens; die Gewebe bleiben bei raschem Arbeiten nativ.

*Methode.* Natives Pflanzengewebe wird in Gehirnsubstanz eingebettet. Es wurde immer frisches Gehirn von Laboratoriumstieren, meistens von Ratten, verwendet. Das Gehirnstück soll so eingeschnitten werden, dass das Pflanzengewebe allseitig eingebettet werden kann. Der Gewebeblock wird sofort auf einen Mikrotomtisch eines Kryostaten (System Dittes-Duspiva) gebracht und mit Kohlensäure in wenigen Sekunden auf etwa  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Nach Einschleusen in den Kryostaten muss zur Einstellung des Gewebes auf die Kryostattemperatur etwa 1 h bis zum Schneiden gewartet werden. Die Güte

der Schnitte ist von der Kryostattemperatur und der Schnittdicke abhängig. Die optimalen Bedingungen müssen jeweils empirisch bestimmt werden. Eine wichtige Rolle spielt der Wassergehalt der Gewebe. Im allgemeinen müssen wasserreiche Gewebe bei höheren Temperaturen geschnitten werden als solche mit niedrigem Wassergehalt. Für verschiedene vegetative Pflanzengewebe liegen die optimalen Kryostattemperaturen bei  $-12^{\circ}$  bis  $-18^{\circ}\text{C}$ , die optimalen Schnittdicken betragen 12–24  $\mu$ .

Die Schnitte werden im Kryostaten durch vorsichtiges Antauen auf Deckgläser aufgezogen und etwa 2 h zum Sublimieren des Eises im trockenen Kryostatraum gelassen. Wegen des Auftretens von Rissen und auch von Kondenswasserartefakten<sup>5</sup> dürfen die Schnitte nicht sofort auf Raumtemperatur gebracht werden, sondern sie werden in einen mit Trockeneis und Trocknungsmittel (Silikagel) beschickten Behälter, z.B. aus Styropor, eingeschleust. Nach Verdampfen des Trockeneises erwärmen

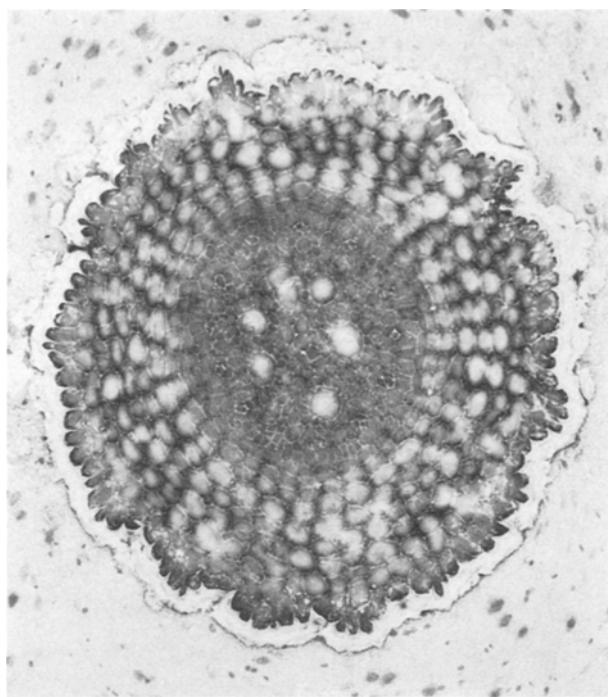
<sup>1</sup> W. A. JENSEN, *Botanical Histochemistry* (Freeman, San Francisco 1962).

<sup>2</sup> J. CHAYEN, G. J. CUNNINGHAM, P. B. GAHAN und A. A. SILCOX, *Nature* 186, 1068 (1960).

<sup>3</sup> M. FRIED und A. H. FRANKLIN, *Nature* 189, 414 (1961).

<sup>4</sup> G. M. WEAVER und R. E. C. LAYNE, *Canad. J. Bot.* 43, 478 (1965).

<sup>5</sup> W. MEIER-RUGE, F. KALBERER und J. GRAUWILER, *Klin. Wschr.* 42, 1024 (1964).



Querschnitt durch Wurzel spitze von *Zea Mays*. Gehirneinbettung. Hämalaunfärbung. Interferenzfilter grün,  $\times 130$ .

sich die Schnitte mit dem Behälter langsam auf Raumtemperatur. Sie sind nun für histochemische Untersuchungen bereit.

Die Figur zeigt einen Querschnitt durch eine Wurzel spitze von *Zea Mays* nach Gehirneinbettung. Die noch zarten Zellwände und die ersten Interzellularen des Periblems wie auch die ersten Gefäße sind gut erhalten. Bei stärkerer Vergrößerung konnten verschiedentlich Zellkerne im Stadium der Mitose beobachtet werden.

Mit Hilfe der beschriebenen Kryostatschnittechnik wurden bereits erfolgreich Versuche über die Verteilung von Mineralstoffen in Pflanzengeweben durchgeführt<sup>6</sup>.

**Summary.** A technique for cryostat sectioning of fresh plant tissues was developed. Embedding in unfixed brain pieces prevents disruption of plant tissue during freezing and sectioning. The method is now applied to histochemical studies on the distribution of minerals in plant tissues.

A. LÄUCHLI

Botanisches Institut der Universität Basel (Schweiz),  
20. Dezember 1965.

<sup>6</sup> Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil im pathologischen Institut der Universität Basel ausgeführt. Herrn Prof. Dr. A. WERTHEMANN möchte ich für die gewährte Gastfreundschaft bestens danken, ebenso Herrn PD Dr. W. MEIER-RUGE für wertvolle Anregungen und Fräulein V. UNTERRICKER für die Mithilfe bei der Laboratoriumsarbeit.

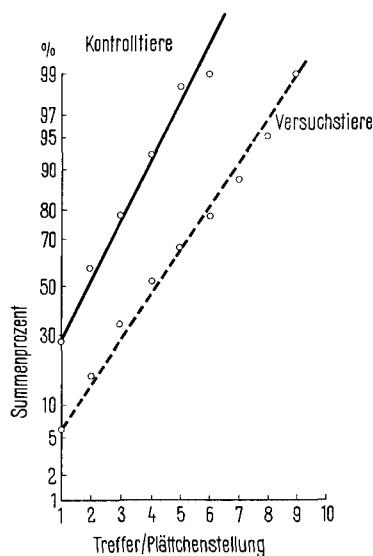
### Die Treffermethode in der Messung der Parathyreozyten-Aktivität nach der Epiphysektomie

Dem DALESESCHEN Prinzip über die Verhältnisse von Flächen und Volumina an nichthomogenem Material folgend, wie auch der späteren Anwendung dieser Forderung in der Histophysiologie (HAUG<sup>1</sup>, HENNING<sup>2</sup>, KÜGELGEN und BRAUER<sup>3</sup>) nach, haben wir versucht, in ähnlicher Weise die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Parathyreozyten nach der Epiphysektomie zu analysieren.

Als Material verwendeten wir elektronenmikroskopische Aufnahmen (Vergrößerung  $\times 18000$ ) von Epithelkörperchen der epiphysektomierten Ratten 3 Wochen nach der Entfernung der Pinealdrüse und von Epithelkörperchen der Ratten, die dasselbe Operationstrauma ohne Entfernung der Epiphyse erlitten hatten. Die Epithelkörperchen beider Versuchsgruppen wurden in Acrolein vor- und in Osmiumtetroxyd nachfixiert und in Araldit eingebettet.

Zwecks Analyse mittels Treffermethode wurde ein quadratisches Integrationsplättchen von  $2.304 \text{ mm}^2$  Fläche konstruiert. Dieses Plättchen hatte auf 5 Linien 25 asymmetrisch geordnete und  $9.5 \text{ mm}$  entfernte Punkte, die die Treffer darstellen. Die Entfernung der Punkte

ist so bestimmt, dass jede unabhängige Stellung des Integrationsplättchens immer mit Wahrscheinlichkeit 1, eine von 3 Zellkomponenten (Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum und Golgi-Komplex), die wir als Indikatoren der Zellaktivität voraussetzen, trifft. Diese Entfernung der Punkte ergab die Gaußsche Wahrscheinlichkeitsverteilung der Treffer. Es wurden bei epiphysektomierten



<sup>1</sup> H. HAUG, Z. Anat. Entw. Gesch. 118, 302 (1954).

<sup>2</sup> A. HENNING, Zeiss-Werkz. 6, 78 (1958).

<sup>3</sup> A. v. KÜGELGEN und B. BRAUER, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 57, 766 (1962).