

Zeitschrift: Bericht über das Geobotanische Forschungsinstitut Rübel in Zürich
Herausgeber: Geobotanisches Forschungsinstitut Zürich
Band: - (1935)

Artikel: Neue Pollenanalytische Untersuchungsmethoden
Autor: Erdtman, G.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-377449>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 14.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

NEUE POLLENANALYTISCHE UNTERSUCHUNGSMETHODEN

Von *G. Erdtman*, Västerås, Schweden.

Vieles ist unzweifelhaft versäumt worden, die Pollenanalyse rein botanisch auszubauen und zu vertiefen. So hat man z. B. die Pollendiagnostik nicht gebührend verfeinert und, um nur einige Beispiele zu nennen, solche Fehler gemacht, wie zu behaupten, es sei unmöglich, *Myrica*-Pollen von *Corylus*-Pollen (obgleich der erste dem *Betula*-Pollen weit ähnlicher ist als dem letzteren), bzw. *Fagus*-Pollen von *Hippophae*-Pollen usw. zu unterscheiden. Man hat ferner meistens nicht beachtet, daß in vielen Gattungen wie *Alnus*, *Quercus*, *Tilia* usw. eine Artbestimmung durch pollenmorphologische Merkmale in gewissen Fällen möglich ist.

Schon vor hundert Jahren stellte Carl Julius Fritzsche fest, daß die Exine der Pollen bisweilen in zwei Schichten gegliedert ist (vgl. S. 676, 754 usw. in *Mém. Savants Etrang.*, **3**, St. Petersburg 1837). Die Ausbildung dieser Schichten, besonders bei den Poren, ist häufig von diagnostischem Wert, wird von den Moorbotanikern aber meistens ganz übersehen.

Dasselbe gilt für die Tatsache, daß auch solche skulpturelle oder strukturelle Einzelheiten der Exine, die nur mit Hilfe stärkster Vergrößerungen erfaßt werden können, in der Pollenanalyse zur Diagnostizierung verwendet werden können (vgl. z. B. *Taxus*). Um diese Tatsache praktisch zu verwerten, müssen aber die Torfpräparate usw. so dünn sein, daß sie die Anwendung von Immersionsobjektiven erlauben, was aber oft infolge des Gehalts der Präparate an grobem Pflanzendetritus oder anorganischen Bestandteilen unmöglich ist. Es gilt also hier Methoden auszuarbeiten, die es möglich machen, diese störenden Einschlüsse so weit als möglich zu entfernen, ohne die Pollenkörner zu schädigen. Durch solche Methoden sollten also die Pollenkörner konzentriert werden und somit besonders bei der Untersuchung von pollenarmen Proben auch viel Zeit gespart werden. Es wäre ferner möglich, ohne allzu großen Zeitaufwand eine größere Zahl von Pollentypen — nicht nur Baumpollen — zu studieren.

Nachstehend werden einige Methoden kurz geschildert, die zu diesen Zwecken ausgearbeitet sind. Der Hauptsache nach sind sie schon andernorts veröffentlicht worden (Svensk Botanisk Tidskrift **27** 1933 [347–357], **28** 1934 [354–358], **29** 1935 [79, 80], **30** 1936 [154–164], werden hier aber, einer freundlichen Einladung von Dr. W. Lüdi folgend, noch einmal, und zwar teilweise in etwas erweiterter Form zusammengestellt.

Es würde mich freuen, wenn diese Zeilen dazu beitragen möchten, das Interesse für Pollenmorphologie und experimentelles pollenanalytisches Arbeiten zu steigern; denn erst wenn die Pollenkunde durch morphologische Monographien, experimentelle Untersuchungen über die spezifische und die individuelle Resistenz der Pollenkörner usw. bereichert worden ist, wird es möglich sein, rein rationell pollenanalytisch-botanisch zu arbeiten.

Herstellung von Präparaten rezenter Pollen und Sporen.

Als Ausgangsmaterial werden trockene Pflanzenteile (Herbariummaterial) verwendet. Frische Blüten oder Blütenstände müssen zuerst durch Pressen oder im Exsiccator getrocknet werden. Das trockene pollen-, bzw. sporenhaltige Material wird zuerst pulverisiert, dann mit Thieles Gemisch (Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure) azetolysiert. Im hiesigen Laboratorium werden diese Operationen im einzelnen in folgender Weise ausgeführt.

Ein Trichter* (ein Sternchen verweist auf die Materialangaben S. 45 hin) wird in einem Stativ befestigt und ein Zentrifugierröhrchen* unter den Ablauf des Trichters gestellt (vgl. Abb. 1). Ein Siebtuch* aus Messing wird auf den Trichter gelegt, das Untersuchungsmaterial auf das Sieb gebracht und vorsichtig zerrieben, indem es mit einem Finger hin und her gegen das Sieb bewegt wird. Nach Entfernung des Siebtuches wird das zerriebene Material ins Zentrifugierröhrchen hинtergespült durch eine frisch hergestellte Mischung von Essigsäureanhydrid (9 Volumenteile; vgl. Chemikalien*) und konzentrierter Schwefelsäure (1 Volumenteil), die man aus einer Pipette unter kreisenden Bewegungen fließen läßt, bis das Zentrifugierröhrchen bis zur oberen Linie („10 cm³-Linie“; vgl. Zentrifugierröhrchen*) gefüllt ist. Wenn man auf einmal vier Proben aufarbeitet, läßt man bei der Bereitung der Essigsäureanhydrid-Schwefelsäuremischung aus einer Pipette 4 cm³ konzentrierte Schwefelsäure zu 36 cm³ in einem Rohr-

kölbchen befindlichen Essigsäureanhydrid fließen. Nach Durchmischung, wobei die Temperatur auf etwa $+70^{\circ}\text{C}$ steigt, wird das Reaktionsgemisch auf die Zentrifugierröhrchen verteilt.

Die Zentrifugierröhrchen mit dem im Reaktionsgemisch suspendierten Pflanzenpulver werden dann in ein Wasserbad* gesetzt. Die Anfangstemperatur des Wassers sollte $+70^{\circ}\text{C}$ nicht überschreiten. Während der Erhitzung des Bades werden die sedimentierten Pflanzenreste ein oder ein paar mal durch vorsichtiges Umrühren mit einem Glasstabe aufgewirbelt. Wenn das Wasser ins Kochen übergeht, wird die Flamme gelöscht, die Zentrifugierröhrchen vorsichtig herausgenommen, abgetrocknet und in die Zentrifuge gesetzt. In die Zentrifugenhülsen steckt man zuerst etwas Baumwolle, die ab und zu gewechselt wird, damit sie nicht unter dem Einfluß von Feuchtigkeit hart und schwer entfernbar wird.

Bei Verwendung einer elektrischen Zentrifuge, z. B. einer Chordazentrifuge mit maximal 3000 Umdrehungen pro Minute, geht das Sedimentieren sehr schnell vonstatten — etwa ein halbe Minute — auch wenn die durch einen Widerstand regulierbare Umdrehungszahl nicht voll ausgenützt wird. Wenn man mit weniger leistungsfähigen Zentrifugen wie Wasser- oder Handzentrifugen arbeitet, dauert die Sedimentation entsprechend länger. Nach dem Zentrifugieren gießt man die Flüssigkeit ab, füllt die Röhrchen bis zur 10-cm³-Linie mit Wasser und schüttelt sie kräftig. Hierbei ist, wie auch bei jedem Arbeiten mit Torf oder sonstigem pollenhaltigem Material, peinliche Sauberkeit notwendig, damit keine Pollenkörner von einem Röhrchen in ein anderes übergeführt werden. Nach Entfernung des beim Schütteln entstehenden Schaumes durch Zufügen einiger Tropfen Azeton wird zum zweitenmal zentrifugiert, das Wasser abgegossen und eine Mischung von Glycerin und Wasser (1 : 1) bis zur „5 cm³-Linie“ zugesetzt. Durch Anklopfen des Zentrifugierröhrchens wird das Sediment in dieser Mischung aufgewirbelt. Dann wird zum drittenmal zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen und die Zentrifugierröhrchen verkehrt auf ein Stück Fließpapier gestellt.

Präparate werden in gewöhnlicher Weise hergestellt, indem man mit einer Pinzette etwas vom pollenhaltigen Sediment auf einem Objektträger mit geschmolzener Glyzeringelatine (Kaiser) verrührt, ein aufgewärmtes rundes Deckglas (18 mm) ohne Druck darauf legt und das ganze Präparat schnell umkehrt, damit die Pollenkörner auf dem

Deckglas sedimentieren und somit auch mit Immersionssystemen leicht untersucht werden können. Nach einigen Monaten werden die Deckgläser mit Lack umrandet. Wird statt der gewöhnlichen Glyzeringelatine die wasserärmere, angeblich weit haltbarere Glyzeringelatine nach Kisser (Zeitschrift für Mikroskopie **51** 1935, 372–374) verwendet, muß das pollenhaltige Material vor dem Einschließen in konzentriertes Glyzerin übergeführt werden.

Zur Herstellung eines Präparates genügt oft ein ganz kleiner Teil des pollenhaltigen Sedimentes, das ja Pollenkörner genug für hundert Präparate oder mehr enthalten kann. Das pollenhaltige Sediment wird für eventuelle weitere Verwendung mit konzentriertem Glyzerin versetzt und in kleinen Röhrchen (Länge etwa 3 cm, innere Durchmesser etwa 8,5 mm) aufbewahrt. Wenn Präparate von Material, das in dieser Weise aufbewahrt wurde, gemacht werden sollen, verdichtet man zuerst den Bodensatz durch vorsichtiges Zentrifugieren, wobei das ganze Aufbewahrungsglas in ein Zentrifugierröhrchen gelegt wird.

In einigen Fällen (z. B. *Geranium*, *Scabiosa* und andere Gattungen mit verhältnismäßig großen Pollenkörnern) werden die Pollenkörner durch die Azetolyse bisweilen etwas zu dunkel, um die strukturellen Einzelheiten scharf hervortreten zu lassen, und müssen darum aufgehellt werden. Zu diesem Zweck gibt man zum glyzerindurchtränkten Sediment 4 cm³ Eisessig, 2 bis 3 Tropfen Natriumchloratlösung (NaClO₃ 1 Gewichtsteil, Wasser 2 Gewichtsteile) und dann konzentrierte Salzsäure bis zur 5 cm³-Linie. Das Reaktionsgemisch wird mit einem Glasstabe umgerührt, zentrifugiert, die Flüssigkeit abgossen, das pollenhaltige Sediment mit Wasser gewaschen und über Glyzerin in Glyzeringelatine eingebettet.

Herstellung von Präparaten von Torf, Sedimenten usw.

Feuchter Torf wird im Vacuumexsiccator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Der trockene Torf wird dann in der oben angegebenen Weise durch Reiben gegen ein Siebtuch aus Messing pulverisiert. Weil die chemisch-physikalischen Eigenschaften fossiler Pollenkörner von denjenigen rezenter Pollenkörner abweichen und weil die fossilen Pollenkörner, insbesondere um den Zeitaufwand bei den Analysen zu vermindern, durch mehr oder minder eingreifende Zerstörung des sie einhüllenden Mediums möglichst konzentriert werden sollen, wird die Behandlung des fossilen Materiales in der Fort-

setzung etwas komplizierter als die Behandlung rezenten Materials: vor der Azetolyse muß das Material gebleicht werden.

Zu diesem Ende wird das Torfpulver (die Menge sollte etwa 0,2 g nicht überschreiten) nach Entfernung des Siebtuches durch Zugabe von 4 cm³ Eisessig ins Zentrifugierröhrchen hinuntergespült. Nach Hinzufügen von 5 bis 6 Tropfen Natriumchloratlösung (NaClO₃ 1 Gewichtsteil, Wasser 2 Gewichtsteile) wird das Röhrchen unter Umrühren mit konzentrierter Salzsäure bis zur 5-cm³-Linie gefüllt. Das Torfpulver wird von den entstehenden Gasen, Chlor und Chlordioxyd, angegriffen. Eine hinreichende Bleichung ist meistens nach wenigen Sekunden bis zu einer Minute erreicht. Das Ausmaß der Bleichung wechselt mit der chemischen Zusammensetzung des Materials; so werden Hypnum- und Sphagnum-Torf meistens leichter und schneller gebleicht als z. B. Bruchwaldtorf und Detritusgyttja. Nach der Bleichung folgt Zentrifugieren, Dekantierung der Flüssigkeit, Waschen mit Wasser (d. h. kräftiges Durchschütteln mit 10 cm³ Aq. dest., Entfernen des Schaumes mit Azeton, Zentrifugieren und Dekantieren), Waschen mit Eisessig (Schütteln mit 5 cm³ Eisessig, Zentrifugieren, Dekantieren), dann schließlich Azetolyse (Zugabe von 10 cm³ Essigsäureanhydrid-Schwefelsäuremischung usw.; vgl. oben) und Präparatenherstellung (Glyzerin, oder für Dauerpräparate Glyzeringelatine; vgl. gleichfalls oben).

Durch die Bleichung und die Azetolyse und die im Zusammenhang damit durchgeführten Operationen werden verschiedene Bestandteile des Torfes, z. B. die Ligninfraktion und die Polysaccharide, in größerem oder minderm Ausmaß gelöst und entfernt und die Pollenkörner in entsprechendem Grade konzentriert. Diese Pollenkonzentration ist im allgemeinen viel größer, als wenn der Torf lediglich mit verdünntem Alkali, z. B. Kochen mit 10prozentiger Kali- oder Natronlauge, behandelt wird (vgl. Abb. 2-5, Taf. III-IV); ein anderer charakteristischer Unterschied zwischen chloriert-azetolysiertem und alkalibehandeltem Torf ist der, daß die Pollenkörner im ersteren Falle oft bedeutend größer und leichter diagnostizierbar sind als im letzteren). Wenn man dennoch die Pollenkörner noch mehr konzentrieren will, schüttelt man — nach Bleichung und Azetolyse — das pollenführende Sediment einige Sekunden mit einigen cm³ 0,5prozentiger Natronlauge, wäscht mit Wasser usw. Für sehr pollenarme Substanzen wie Rohhumus u. dgl. kann eine Wiederholung des ganzen Prozesses — Bleichung

und Azetolyse — in Frage kommen. In solchen Fällen muß damit gerechnet werden, daß weniger widerstandsfähige Mikrofossilien zerstört werden. Verschiebungen der relativen Frequenzen können ohne weiteres durch gewöhnliche Analyse verfolgt werden, Veränderungen der absoluten Frequenzen am genauesten durch die in zweckmäßiger Weise angepaßten Methoden der Blutkörperzähltechnik.

Bei schlechter Erhaltung sind die fossilen Pollenkörner gegen chemische Eingriffe, wie sie oben beschrieben sind, weniger widerstandsfähig. In solchen Fällen wird ganz schwach und kurz chloriert und bei der Azetolyse die Temperatur des Wasserbades nur auf etwa + 90 bis 92° C erhöht.

Stark kieselhaltiges Untersuchungsmaterial wird nach der Pulverisierung mit 50- bis 60-prozentiger Flußsäure behandelt, die einen etwa 30 bis 35 cm³ fassenden Kupfertiegel bis zu zwei Dritteln füllt. Das Kieseldioxyd wird bei Zimmertemperatur langsam gelöst, schneller bei vorsichtiger Erwärmung, die sogleich abgebrochen wird, wenn die Säure anfängt zu kochen. Nach Abkühlung und Verdünnung mit etwa 10 cm³ Aqua destillata wird die Flüssigkeit dekantiert und auf zwei kupferne Zentrifugenhülsen (Vol. etwa 23 cm³) verteilt und zentrifugiert. Diese Hülsen werden nach dem Modell der gewöhnlichen Aluminiumhülsen gemacht; da ziemlich dickes Blech verwendet werden muß, sind sie verhältnismäßig schwer, weshalb die Zentrifugierung vorsichtig ausgeführt werden muß. Nach dem Dekantieren wird Wasser zugefügt und das Sediment durch kräftiges Schütteln darin verteilt. Die Suspension wird dann in ein gewöhnliches Zentrifugierröhrchen gegossen und zentrifugiert. Nach Abgießen des Wassers setzt man zum Sediment etwas Salzsäure (2 Vol. Salzsäure, spez. Gew. 1,19, 1 Vol. Wasser). Diese Suspension wird in eine Porzellanschale übertragen und kurz aufgekocht. Nach Waschen (d. h. gutem Durchschütteln mit den betreffenden Flüssigkeiten, Zentrifugieren und Dekantieren) zuerst mit Wasser, dann ein- oder zweimal mit Eisessig wird in angegebener Weise chloriert und azetolysiert. Bei geringem Kieselsäuregehalt kann die Salzsäurebehandlung bisweilen ohne Nachteil weggelassen werden.

Behandlung von Kalkgyttja und sonstigen kalkhaltigen Erdarten: Pulverisierung, Zufügen schwacher Salpetersäure, Verhindern der Schaumbildung durch Azeton, Waschen (zuerst mit Wasser, dann mit Eisessig), Chlorierung, Azetolyse.

Behandlung von Vivianit: Pulverisierung, Schütteln mit schwacher Salzsäure, Waschen mit Wasser, bzw. Eisessig, Chlorierung, Azetolyse. Kieselsäurereicher Vivianit wird behandelt, wie oben für kieselsäurereiches Untersuchungsmaterial beschrieben ist.

Besondere Schwierigkeiten bereiten Substanzen, die so hart sind, daß sie in gewöhnlicher Weise nicht pulverisiert werden können. Sie werden zuerst mit Salpetersäure (10prozentig oder, wenn erforderlich, stärker) aufgeweicht, dann unter Zugabe von Wasser durch die Maschen des Siebtuchs geknetet und nach Waschen mit Wasser, resp. Eisessig in gewöhnlicher Weise chloriert und azetolysiert.

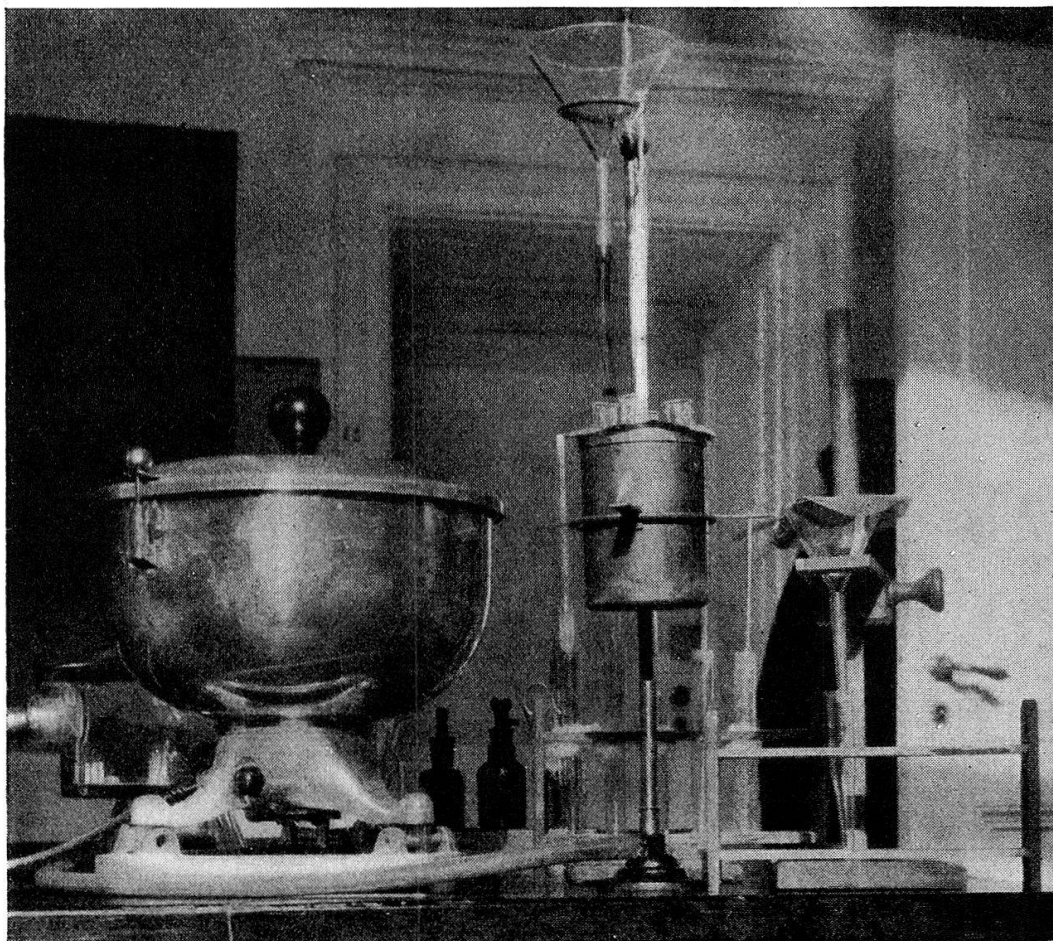


Abb. 1

Chordazentrifuge (links), Wasserbad (mitte) und Trichter zum Pulverisieren des Untersuchungsmaterials (rechts).

Tafel III.

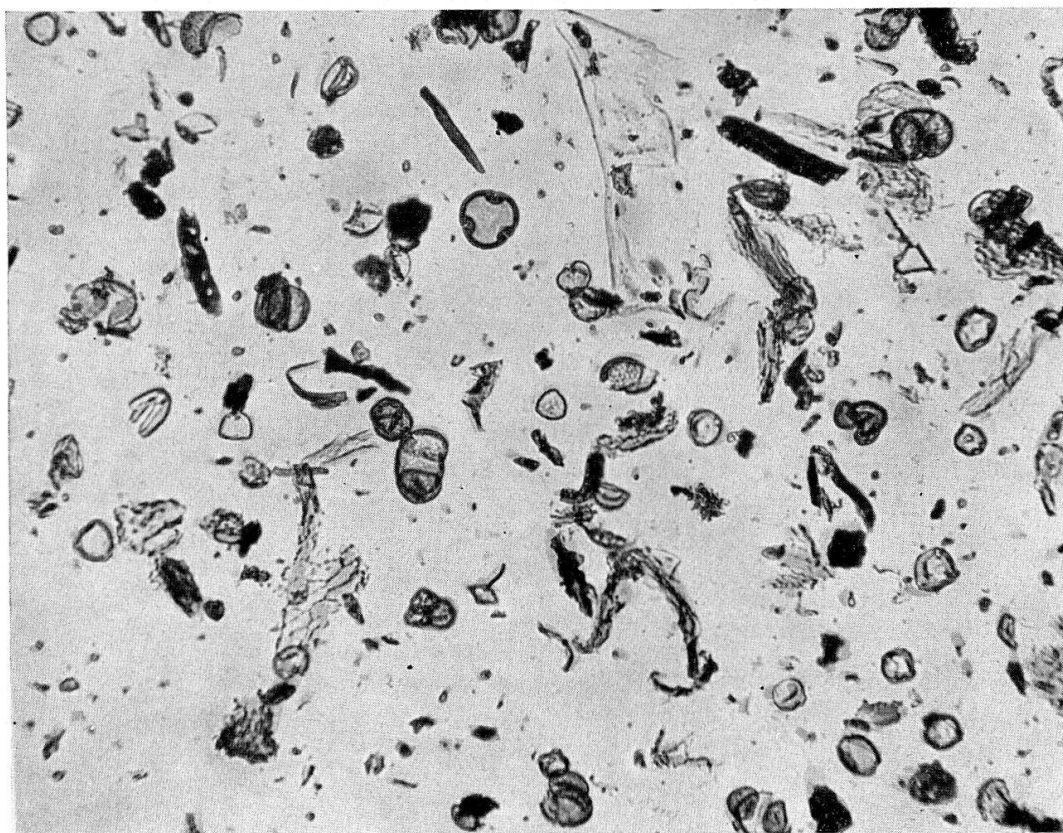
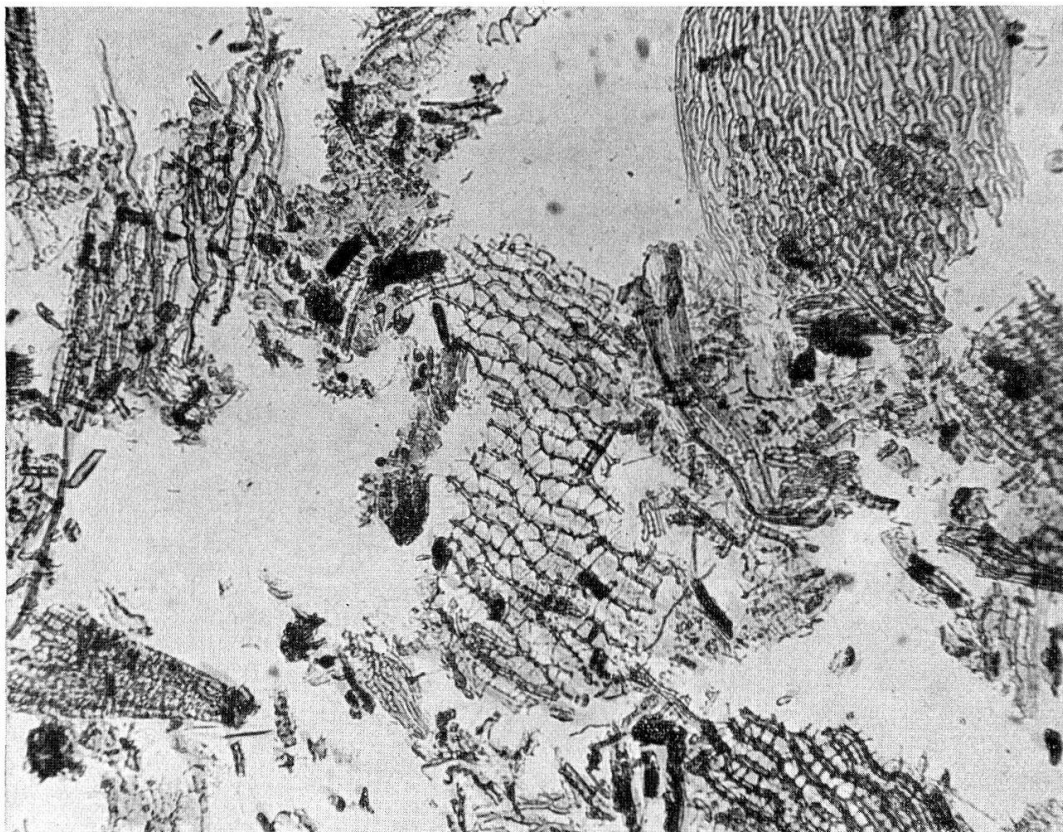


Abb. 2 und 3

Sphagnum-Torf, mit zehnpromzentiger Natronlauge gekocht (oben), chloriert, azetolysiert, nochmals chloriert und gefärbt (unten); aus Svensk Bot. Tidskr. 1936

Tafel IV.

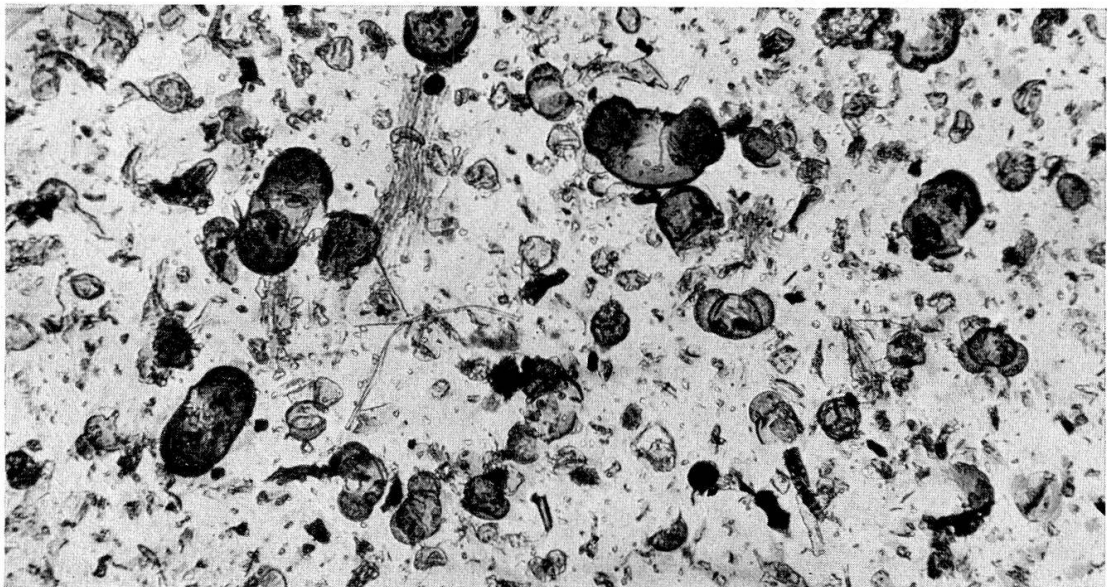
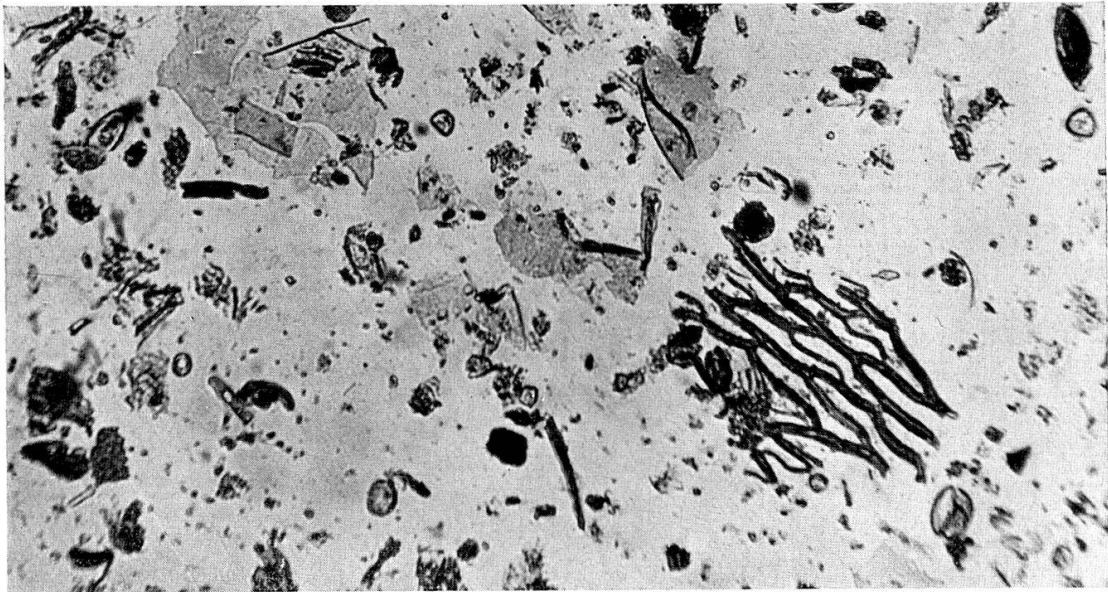


Abb. 4 und 5

See-Dy mit zehnprozentiger Natronlauge gekocht (oben), chloriert und
azetolysiert (unten); aus Svensk Bot. Tidskr. 1936

Materialangaben.

Chemikalien.

Alkohol, Anisol (wird bei Ölimmersionen als Immersionsflüssigkeit verwendet), Azeton, Essigsäure (Eisessig), Essigsäureanhydrid (chemisch oder technisch rein; nicht die teure Qualität Pro analysi), Flusssäure, Glycerin, Natriumchlorat (chemisch rein), Natriumhydrat, Salpetersäure, dito rauchende (zum Reinigen von Deck- und Objektgläsern usw.), Salzsäure, Schwefelsäure.

Siebtuch.

Siebtuch (Drahtgaze) aus Messing mit etwa 300 Maschen pro Quadratcentimeter, wie es in jedem Eisenwarengeschäft erhältlich ist (wird zum Seihen der Milch verwendet). Statt solcher Drahtgaze können Nickelnetze mit entsprechender Maschenzahl verwendet werden; sie sind aber teurer und nur wenig haltbarer. Das Siebtuch wird in Scheiben von etwa 10 cm Durchmesser geschnitten. Mindestens ein Dutzend Scheiben sollte vorrätig sein. Die Scheiben werden mit Wasser gereinigt und vorsichtig über einer Gasflamme getrocknet.

Trichter.

Durchmesser etwa 6 cm, Trichterrohr am besten kurz (2 cm), Vorrat etwa 8 Stück.

Wasserbad.

Vgl. Abb. 1. Das Bad ist aus 1 mm dickem Kupferblech hergestellt; Höhe 11,5 cm, Durchmesser 8,3 cm, Deckel mit fünf Löchern (Durchmesser 2 cm); an der Außenseite drei etwa 5 cm lange Griffe. Über dem Deckel liegt ein Stück Siebtuch, worin fünf Löcher, den fünf Löchern im Deckel entsprechend, in der Weise geschnitten worden sind, daß sie die Zentrifugierröhrchen sicher festhalten, wenn sie in diese Löcher eingeschoben werden (das zentrale Loch ist für das Thermometer). Wenn die Zentrifugierröhrchen ins Wasserbad gesetzt werden, dürfen sie nur bis zur 10-cm³-Linie eingeschoben werden, damit, wenn das Kochen beginnt, kein Wasser in die Zentrifugierröhrchen eindringen kann, was eine heftige Umsetzung mit dem Reaktionsgemisch zur Folge haben kann.

Zentrifugierröhrchen.

Etwa 24 Röhrchen, mit Kragen versehen, unten spitzig zulaufend, numeriert; Volumen etwa 14 cm^3 . Die Röhrchen sollen aus starkem, gegen Temperaturschwankungen wenig empfindlichem Glas (Jenaer Glas oder Pyrex) sein. Zur Bestimmung absoluter Pollenfrequenzen wird ein genau graduiertes Röhrchen verwendet. Um gute und sichere Zentrifugierungen durchzuführen, muß vor jeder Zentrifugierung kontrolliert werden, daß die Zentrifugierröhrchen mit ihrem Inhalt alle dasselbe Gewicht haben. Dies kann mit Hilfe einer Spezialwaage, wie sie von den Zentrifugenfabriken geliefert wird, geschehen, oder einfacher durch Füllen der Röhrchen genau bis zu der „5-cm³-Linie“, resp. der „10-cm³-Linie“. Diese Linien werden mit einem Diamanten so angebracht und geeicht, daß die Röhrchen (die meistens untereinander nicht genau dasselbe Gewicht aufweisen), wenn sie bis dorthin mit einer Flüssigkeit gefüllt werden, genau so viel wiegen wie das graduierte Röhrchen, wenn es bis zur 5-cm³-, resp. 10-cm³-Linie gefüllt wird.

Beim Reinigen werden die Röhrchen mit einer Proberöhrchenbürste sorgfältig ausgebürstet, mit Wasser und dann mit Alkohol ausgespült und schließlich mit Baumwolle, die mit einer Pinzette eingeführt wird, getrocknet.
