

Falle ich wünsche, dass die Namen meiner loyalen-Freunde, nöthigenfalls selbst mit Weglassung des meinigen, damit verbunden bleiben.

Vinkovce, im Juni 1885.

Die Herstellung von Diatomaceen-Dauerpräparaten.

Von E. Debes in Leipzig.

Nachdem ich in einer früheren Arbeit gezeigt habe,*) wie Diatomaceen zum Einlegen vorbereitet werden, liegt mir noch die Aufgabe ob, die Herstellung von Dauerpräparaten zu beschreiben; bevor ich jedoch auf das eigentliche Thema eingehe, sei es mir gestattet, einen kurzen Blick auf die hierbei in Betracht kommenden Einschlussmittel zu werfen, da von deren Wahl und richtiger, sachgemässer Anwendung der Erfolg der Präparation wesentlich abhängt und denselben daher in diesem Kapitel eine sehr wichtige Rolle zufällt.

Jedem Mikroskopiker, welcher sich auch nur einmal vorübergehend mit dem Studium von Diatomaceen beschäftigt hat, wird es gelegentlich aufgefallen sein, dass bei manchen Formen in Luftumhüllung (Trockeneinschluss) die Structur in ausserordentlich scharfer Zeichnung zum Ausdruck gelangt, während bei anderen Arten unter denselben Umständen Klarheit und Schärfe der Abbildung erheblich beeinträchtigt werden; ferner, dass die Sichtbarkeit der Structur mancher Formen in Canada-Balsam stark gemindert, anderer, die in Lufteinschluss grob und rauh erscheinen, gehoben wird, so dass die Zeichnung zart und scharf hervortritt, ja dass erstere in Terpentinöl oder Glycerin in einem solchen Maasse herabgedrückt wird, dass nicht nur die feineren Details, sondern sogar die ganzen Umrisse geradezu verschwinden.

Schon aus diesen Umständen erhellt deutlich, dass die höhere oder geringere Sichtbarkeit der Objecte in ganz erheblichem Maasse von der Art des Einschlussmittels abhängt, und dass letzteres nicht nur die Aufgabe hat, dieselben zu conserviren, sondern in noch viel höherem Grade die überaus feinen und zarten Structurbilder, wie sie viele Diatomaceenschalen bieten, gewissermaassen optisch fassbar zu machen und so die auflösende Kraft des Mikroskops zu unterstützen.

Behalten wir im Auge, dass die Sichtbarkeit der Structurverhältnisse eines Objectes, oder besser Schärfe und Deut-

*) Hedwigia, 1885, H. 2.

lichkeit des von ihnen erzeugten Bildes, proportional dem Unterschiede der Brechungsindices von Object und Einschlussmittel wachsen, und der Brechungsindex der kieselligen Diatomaccenschalen etwa 1,43*) beträgt, können von vornherein Wasser und wässrige Lösungen, Glycerin, Terpentinöl und andere in ihrem Brechungsverhältniss jenem Werth sehr nahe kommende Medien als Einschlussmittel nicht in Betracht kommen. Da ein anderes, stärker brechendes, dabei aber leicht und sicher zu behandelndes und erfahrungsmässig haltbares Mittel nicht bekannt war, hat man sich bis vor wenig Jahren ausschliesslich mit dem Canada-Balsam als Einschlussmittel für solche Diatomeen beholfen, deren grobe und rauhe Structur sie nicht zum Trocken- (Luft-)Einschluss geeignet erscheinen liess. Bei dem geringen Unterschied der Indices (Kieselschale 1,43, Balsam 1,54, Differenz 0,11) kann jedoch ein höherer Grad der Deutlichkeit und Sichtbarkeit nicht erwartet werden und wird daher im Allgemeinen der Balsameinschluss hauptsächlich auch nur mit Vortheil in den erwähnten Fällen verwandt, während es eine jedem Mikroskopiker geläufige Thatsache ist, in welchem Maasse derselbe die Sicht- und Lösbarkeit feinerer Structurverhältnisse (wie die der Pleurosigmen etc.) gegenüber dem Luftabschluss herabdrückt.

Es sind aus diesem Grunde bereits vor mehreren Jahren andere Einschlussmittel zum Vorschlag gebracht worden, die wohl sämmtlich den Vorzug eines höheren Brechungsvermögens besitzen, jedoch, weil sie alle flüssig sind und nicht erhärten und aus allerlei andern Ursachen gewisse technische Bedenken veranlassen, auf welche ich gleich zurückkommen werde.

So hat Dippel Anis- und Cassiaöl, sowie Monobrom-Naphthalin als Einschlussmittel vorgeschlagen; der Engländer J. W. Stephenson hat dagegen Schwefelkohlenstoff, sowie Lösungen von Schwefel und Phos-

*) Dippel, das Mikroskop und seine Anwendung, II. Aufl. I. Th. p. 396. Nach demselben Werk p. 397, 697 und 698 haben die folgenden Medien, welche zum grössten Theil bereits als Einschlussmittel für Diatomaceen empfohlen und angewandt wurden, die nachstehenden Brechungsindices:

Wasser	1,34.	Cassiaöl	1,62.	Thoulet'sche Lösung	1,68.
Glycerin	1,48.	Schwefelkohlenstoff	1,65.	Schwefel } in Schwefelkohlenstoff {	1,75.
Terpentinöl	1,48.	Phenyl-Senföl	1,66.	Phosphor }	2,10.
Citronenöl	1,53.	Monobrom-Naphthalin	1,66.		
Canada-Balsam	1,54.				
Anisöl	1,56.				
Nelkenöl	1,57.				

Auffallenderweise giebt Dippel für Cassiaöl einmal $n = 1,62$ (p. 397), an anderer Stelle (p. 698) $n = 1,64$.

phor in Schwefelkohlenstoff und Quecksilberjodid-Jodcalium (Thoulet'sche Lösung) empfohlen.

Vom Cassiaöl, welches ich aus eigener Erfahrung nicht kenne, rühmt Dippel, dass es recht befriedigende Resultate und schöne klare Bilder gewähre, dabei leicht zu behandeln sei.

Monobrom-Naphthalin, Thoulet'sche Flüssigkeit, sowie die erwähnte Phosphorlösung, geben überraschend klare, scharfe und gut definirte Bilder auch der delicatsten Diatomaceen-Structur; auch ist die Behandlung der beiden Ersteren nicht eben schwierig und bedenklich, wogegen die Letzte der grossen Flüchtigkeit des Lösungsmittels wegen den Einschluss recht sehr erschwert und ihrer grossen Feuergefährlichkeit wegen nur unter Beobachtung gewisser Vorsichtsmaassregeln zur Anwendung gelangen kann.

Wennschon die drei letztgenannten Einschlussmittel bereits seit mehreren Jahren von professionellen Präparatoren angewandt und damit ausgeführte, vortreffliche Diatomaceen-Präparate in den Handel gebracht werden, liegt dennoch in Anbetracht der kurzen Praxis bis jetzt keine genügende Erfahrung betreffs der Haltbarkeit derselben vor und kann man daher der Verwendbarkeit der genannten Stoffe volles Vertrauen in dieser Hinsicht vorläufig nicht entgegenbringen. Das Missliche bei Flüssigkeitseinschlüssen liegt immer in der Möglichkeit einer allmählichen Lösung, Erweichung oder sonstigen Zerstörung des Abschlusslackes oder Kittes durch erstere und die infolge dessen unvermeidliche Trübung oder Austrocknung derselben; ich selbst habe aus diesem Grunde bislang auch nicht gewagt, eines dieser flüssigen Medien für Dauerpräparate zu verwenden. Vollständige Sicherheit nach dieser Richtung bieten daher nur solche Einschlussmittel, welche aus dem flüssigen oder halbflüssigen Zustand durch Erhärtung in den festen übergehen, ohne sich dabei in der Farbe wesentlich zu ändern.

Zwei derartige Einschlussmittel, welche einen beträchtlich höheren Brechungsindex als Canada-Balsam besitzen, sind nun neuerdings (Mitte 1883) von dem bekannten Diatomographen Professor Henry van Heurck, Director des botanischen Gartens in Antwerpen, bekannt gemacht und empfohlen worden.*) Es sind dies die beiden Harze *Styrax* und *Liquidambar* mit einem Brechungsindex von etwa 1,63. — Umfassende Versuche, welche ich mit denselben angestellt habe, haben mich von der Vortrefflichkeit und

*) Bull. Soc. Belge de Microsc. t. IX, 1883 p. 134.

Bull. Soc. Belge de Microsc. t. X, 1884 p. 178.

Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie, Bd. II, p. 81.

Brauchbarkeit derselben so vollständig überzeugt, dass ich — abgesehen von Lufteinschluss in geeigneten Fällen und der unumgänglichen Anwendung des Canada-Balsams bei solchen Formen, die stärkere Einschliessschichten erfordern — ihre ausschliessliche Verwendung bei Diatomaceen-Präparation an Stelle des Canada-Balsams dringend empfehle.

Sie geben ausgezeichnet klare, relativ leicht lösbare Structurbilder und übertreffen daher in der optischen Wirkung den Canada-Balsam um ein Beträchtliches; dabei sind sie ebenso leicht und sicher zu behandeln wie dieser, trocknen rasch bis zur vollständigen Festigkeit aus und sind auch viel weniger spröde, so dass ein Abspringen des Deckgläschens oder Entstehen von irisirenden Stellen, auch ohne Befestigung der Letzteren durch Lackring, niemals zu befürchten steht.

Die braune rumartige Farbe, welche namentlich dem Styrax eigen ist, macht sich in den dünnen, für Diatomaceen-Präparation erforderlichen Schichten kaum bemerkbar und bringt keinen höheren Grad der Färbung des Gesichtsfeldes hervor, als stark ausgetrockneter Canada-Balsam, soll auch in dieser Form bis zur völligen Farblosigkeit bleichen, wenn man die Präparate dem directen Sonnenlicht einige Zeit aussetzt, was ich jedoch bislang noch nicht selbst habe constatiren können.

Beide Einschliessmittel sind, nach der Instruction des Dr. van Heurck präparirt, sowohl trocken als gelöst, von der „Société anonyme de fabrication de produits chimiques, ancienne maison Emile Rousseau et ses fils, 42 et 44 rue des Ecoles, Paris“ zu beziehen.

Der Styrax oder Storax, das Harz des in Klein-Asien, Cypren und Syrien wachsenden Liquidambar orientale Müller, kommt im Drogenhandel in zwei verschiedenen Formen vor, als Styrax liquidus und Styrax calamitus. Letzterer bildet eine körnige, dunkelbraune, trockene sägespänenartige Substanz und kommt hier nicht in Betracht. Der Styrax liquidus des Handels ist eine graue, zähe, dickflüssige Masse, von angenehmem Geruch, die an der Luft nur sehr langsam und schwierig trocknet. Dieselbe wird nach van Heurcks Anweisung in dünnen Lagen auf flache Gefässe gebreitet, Luft und Licht ausgesetzt, um zu trocknen — was übrigens selbst bei Anwendung von permanent einwirkender Wärme nach meiner Erfahrung viele Monate dauert —, worauf sie in einem Gemisch von Alkohol und Benzin (jedoch kein Petroleum-Benzin) gelöst und gut filtrirt wird, um zum Gebrauch fertig zu sein.

Die Ursache des langsamen Trocknens des Styrax liegt in dem Umstand, dass er aus zwei isomeren Modificationen eines Kohlenwasserstoffs besteht, nämlich einem an sich trocknen Harz von dunkelbrauner Farbe und dem Styracin (Zimmetsäure—Zimmetäther) nebst Zimmetsäure und Benzoësäure, welche letztere dem Styrax den angenehmen Geruch verleihen, ganz heller, höchstens hellgelber Farbe, flüssiger und schwer flüchtiger Natur sind, das Harz gelöst enthalten, aber auch dessen vollständige Austrocknung verhindern. Da sie in Petroleum-Aether und Petroleum-Benzin löslich sind, nicht aber das Harz, kann man dieselben durch die beiden Stoffe ohne grosse Mühe vollständig ausziehen, indem man den Styrax in einer Abdampfschale leicht erwärmt, mit Petroleum-Aether tüchtig umrührt und die überstehende klare Flüssigkeit abgiesst, dann die noch mechanisch vermischte Flüssigkeit im Wasserbad abdampft und dies Verfahren so oft wiederholt, bis nach dem letzten Abdampfen das immer dunkler werdende Harz die erwünschte Consistenz erlangt hat.

Eine von der genannten Pariser Firma bezogene Glasbüchse enthielt 60 Gramm Styrax und kostete 2,50 Fr.; letzterer war jedoch noch nicht völlig vom Styracin befreit und trocknete daher nicht vollständig, so dass er noch einer kurzen Behandlung in der beschriebenen Art unterzogen werden musste.

Chloroformlösung, wie die von van Heurck empfohlene halb-alkoholische Lösung sind für die gewöhnlichen Massenpräparate durchaus brauchbar und zu empfehlen; aus später klar werdenden Gründen sind jedoch in gewissen Fällen andere Lösungsmittel vorzuziehen und löst man das Harz zu dem Zweck am besten in gutem Benzin (nicht Petroleum-Benzin), Benzol, Toluol oder Xylol, filtrirt durch Papier und giesst oder zieht, von etwa bei längerem ruhigen Stehen der Lösung sich bildenden Niederschlägen unlöslicher Producte, die klare Flüssigkeit behutsam ab.

Ein flüchtiger Versuch, eine Chloroformlösung von Styrax mit Wasserstoffsperoxyd zu bleichen, hat einen relativ guten und vielversprechenden Erfolg gehabt und ich zweifle nicht daran, dass es bei einiger Bemühung gelingen wird, dies sehr vortreffliche Einschlussmittel auch nach dieser Richtung hin zu verbessern.

Der Liquidambar, das Harz des Liquidambar Styraciflua L., des nordamerikanischen Storax-Baumes, ist im rohen Zustande dem Styrax ähnlich und muss wie dieser behandelt werden. Da das Harz im europäischen Handel — es ist nicht einmal in London zu erlangen —

nicht vorkommt, ist man lediglich auf die genannte Pariser Bezugsquelle angewiesen, die dasselbe übrigens in vorzüglicher Qualität liefert.

In allerjüngster Zeit, nämlich im vergangenen Jahre, ist die Aufmerksamkeit der Diatomographen abermals auf zwei neue, von Professor H. L. Smith in Geneva, N. Y., entdeckte oder erfundene Einschlussmittel gelenkt worden, welche noch weit höhere Brechungsindices (2,00 bez. 2,25 — 2,40) besitzen sollen als jene, und falls ihre sonstigen Eigenschaften sie dazu qualificiren sollten, sich in noch höherem Maasse zur Diatomaceen-Präparation eignen und empfehlen würden.*)

Leider behandelt der Erfinder die Sache noch als Geheimniss, so dass von einer allgemeinen Anwendung derselben vorläufig nicht die Rede sein kann; sobald jedoch ersterer die Zusammensetzung der Medien bekannt gemacht hat, werden dieselben gleichfalls von Rousseau und Söhne bezogen werden können.

Der von C. H. Kainals Einschlussmittel empfohlene Tolu-Balsam**) eignet sich zur Diatomaceen-Präparation durchaus nicht, da er, wie ich durch Versuche festgestellt habe, kein besseres Bild als der Canada-Balsam erzeugt; der angeblich „höhere Brechungsindex“ dürfte daher wohl fictiv sein und kaum über den des Letzteren hinausgehen, sicher

*) The American monthly Microscopical Journal, April 1884 theilt darüber mit: „Professor H. L. Smith hat viel Zeit und Mühe darauf verwandt, um Medien von hohen Brechungsindices als Einschlussmittel für Diatomaceen und ähnliche Objecte zu finden. — Er ist nun sicher, durch seine Anstrengungen einen Erfolg erreicht zu haben, indem er zwei Media entdeckt hat, welche beide in ihrer Zusammensetzung neu und bisher unbekannt waren.

Das erste Medium ist eine durchsichtige, farblose Substanz in Gestalt einer dicken Flüssigkeit, mit dem Brechungsindex 2,00, welche bei Anwendung von Wärme in gleicher Weise erhärtet wie Canada-Balsam und ebenso leicht und mühelos zu behandeln ist, wie dieser.

Das zweite Medium ist eine dicke, gelbe Flüssigkeit, die eine gleiche Behandlungsweise wie jene beansprucht, jedoch einen Brechungsindex von 2,25 (nach andern Angaben bis 2,40) besitzt. Die nach dem Eintrocknen mehr hervortretende bräunliche Färbung ist nicht stärker als diejenige von altem, etwas überhitztem Canada-Balsam.“

Henry van Heurck schreibt über letzteres im Text zur Synopsis des Diatomées de Belgique p. 30: „Dieses Medium, welches wir, Dank der Gefälligkeit seines Erfinders, schon seit langer Zeit kennen, ist uns zum Studium der feinen Details vieler Diatomaceen von grossem Nutzen gewesen, es eignet sich jedoch nicht für Diatomaceen mit grober Structur.“

**) Journal R. Microsc. Soc. ser. II. vol. IV 1884, p. 985. Zeitschrift f. wissensch. Mikroskopie Bd. II. p. 82.

aber den des Styrax weder erreichen, noch viel weniger übertreffen.

Da die braune Färbung der beiden Einschlussmittel Styrax und Liquidambar ihrer Anwendung in stärkeren Schichten, also bei starkschaligen, hohlen und gebogenen Formen, noch hinderlich entgegensteht, wird man bei der Präparation solcher vorläufig noch immer zum Canada-Balsam greifen müssen. Da derselbe jedoch in der käuflichen Form infolge seines Gehaltes an schwertrocknenden flüchtigen Oelen ungemein langsam und schwierig erhärtet und dadurch allerlei Unbequemlichkeiten verursacht, sei hier ein, wie es scheint, nicht allgemein bekanntes Verfahren mitgetheilt, durch welches derselbe von dieser unangenehmen Eigenschaft befreit wird.

Der rohe (nicht gelöste) Balsam wird nämlich in einer offenen Abdampfschale im Wasserbad und unter häufigem Umrühren mittels eines Glasstabes so lange (bis 24 Stunden) erhitzt, bis er sich nach dem Erkalten spröde und brüchig zeigt. Am bequemsten geschieht dies, indem man die Schale auf ein Blechgefäß setzt, in welchem Wasser kocht. Das so gehärtete Harz trocknet offen binnen 24 Stunden, als Einschlussmittel in dünner Schicht binnen wenig Tagen vollständig aus, so dass das Deckglas unverschiebbar fest liegt. Was über die zu verwendenden Lösungsmittel beim Styrax und Liquidambar gesagt ist, gilt auch beim Canada-Balsam.

Die ziemlich dünnflüssigen Einschlussmittel pflege ich in Gläschen mit eingeschliffener Pipette, letztere oben durch Gummihütchen abgeschlossen, wie solche von E. Thum und W. P. Stender in Leipzig zu beziehen sind, aufzubewahren. Dieselben vereinigen den Vortheil eines staub- und luftdichten Verschlusses mit der Bequemlichkeit eines sicheren Tropfapparates und sind daher allen anderen Vorrichtungen vorzuziehen.

Das Auftragen der Diatomaceen, soweit es sich um sogenannte Massenpräparate handelt, bei welchen die Diatomaceen nicht in beschränkter Anzahl, sondern in Menge unter einem Deckglas zur Präparation gelangen, geschieht nun folgendermaßen.

Mit einer Pipette hebt man durch Aufsaugen von dem nach dem früher beschriebenen Verfahren gut gereinigten, in einem Röhrengläschen unter Alkohol aufbewahrten Material eine kleine Quantität heraus, lässt dieselbe in ein anderes gut gesäubertes Gläschen gleicher Art tropfen und füllt destillirtes Wasser darüber, welches man, sobald sich die Diatomaceen vollständig gesetzt haben, mit Hilfe der Pipette wiederholt erneuert, bis jede Spur von Alkohol ausgewaschen

ist. Schliesslich wird noch einmal destillirtes Wasser aufgefüllt, bis das Gläschen nahezu voll ist.

Die vorher gut gereinigten Deckgläschen, *) auf welche das Material aufgetragen werden soll, werden auf einer grösseren, womöglich schwarzen oder auf dunkler Unterlage liegenden Glasplatte oder glatten Hartgummiplatte in der Weise befestigt, dass man dieselbe anhaucht und jene auf die so leicht befeuchtete Platte andrückt, auf welcher sie lange Zeit infolge Adhäsion haften bleiben.

Jetzt wird der Inhalt des Röhrengläschens leicht geschüttelt oder mit Hilfe der Pipette erregt, bis das Material gut vertheilt im Wasser flottirt. Von dieser diatomaceenhaltigen, etwas milchigen Flüssigkeit bringt man nun vermittelst der Pipette einen oder mehrere Tropfen je auf ein Deckgläschen, indem man dieselben leicht darauf fallen lässt, wobei man zu beachten hat, dass die Flüssigkeit die ganze Fläche des Gläschens bis zum Rand vollständig und halblinsenförmig ausfüllt. Die in der Flüssigkeit gleichmässig vertheilten Diatomaceen werden sich nun auch gleichmässig niederschlagen und regelmässig auf den Gläschen vertheilen, sofern man diese keinen Erschütterungen aussetzt. Sind letztere alle mit Flüssigkeit versehen, bedeckt man sie zur Abhaltung staubiger Verunreinigungen mit einer Glasglocke oder einem ähnlichen Schutz und lässt sie unter dieser ohne Anwendung von Hitze langsam, am besten an Ort und Stelle trocknen, da das Material desto gleichmässiger vertheilt bleibt, je ruhiger und ungestörter man es antrocknen lässt.

Das von manchen Seiten empfohlene Auftragen mit Alkohol sowohl, als die Anwendung von Hitze zum raschen Trocknen sind entschieden zu verwerfen, da beide einer gleichmässigen Ausbreitung des Materials in hohem Grade hinderlich sind und ausnahmslos ein Zusammenhäufen der Kieselschalen in Nestern und Strähnen veranlassen.

Sollen die Präparate tadellos werden, ist vor allen Dingen darauf zu sehen, dass das Material nicht zu dick zum Auftragen gelange. Die Schalen müssen nach dem Eintrocknen gleichmässig vertheilt und durch solche Zwischenräume von einander getrennt auf der Deckplatte lagern, dass die einzelnen Individuen deutlich erkennbar werden und sich nicht einander bedecken. Man erreicht dies am sichersten, wenn man nicht zu viel Material in das Röhrengläschen thut, bezüglich die Menge desselben verringert, sobald man erkennt,

*) Ich benutze des besseren Aussehens und des bequemern Abschlusses durch Lackring vermittelst des Drehtisches wegen runde Deckgläschen in der Stärke von unter 0,20 mm und für Massenpräparate von einem Durchmesser von 10 und 12 mm.

dass die Präparate zu überfüllt werden, was sich auf dem dunkeln Untergrund der Glasplatte in den meisten Fällen schon vor dem Austrocknen leicht beurtheilen lassen wird.

Anfänger werden wohl thun, sich zur eignen Information und Controle einige gute Präparate von bewährten Präparatoren (J. D. Möller in Wedel, E. Thum in Leipzig, Bourgogne in Paris) zu verschaffen, um sie als Maassstab an ihre eigenen Leistungen zu legen.

Sind die Deckgläschen vollständig trocken, nimmt man sie mit Hilfe der Pincette von der Glasplatte ab — sollten sie zu fest daran haften, kann man sie durch mässiges Erwärmen der letzteren oder durch Unterschieben einer dünnen Messerklinge leicht lockern —, sieht sie auf einem Objectträger unter dem Präparirmikroskop auf 'größere Verunreinigungen (nachträglich darauf geflogene Fasern und dergleichen) durch, um sie dann wieder unter die Glasglocke zu legen. Hierauf giebt man einen Tropfen der Einschlusslösung darauf, der sich über das Gläschen flach linsenförmig bis zum Rand vertheilen wird und überlässt denselben abermals der allmählichen Verdunstung unter der Glasglocke, bis die Lösung zur Consistenz des zähflüssigsten Syrups eingedickt ist, worauf man das Deckgläschen mit einer Pincette an der Seite fasst und auf den vorher sorgfältigst gereinigten Objectträger auflegt, jedoch ohne dasselbe anzudrücken. Eine ganz geringe, vorsichtige Erwärmung des Ersteren bewirkt dann die gleichmässige Vertheilung des Einschlussharzes bis zum Rand des Deckglases, und den Austritt etwaiger Luftblasen.

Bei Anwendung von Chloroform-Lösung ist es nicht nöthig, die Lösung erst eintrocknen zu lassen, das Deckgläschen kann vielmehr in der eben beschriebenen Weise direct aufgelegt werden.

Wird die letztere Manipulation mit Geschick und Sorgfalt ausgeführt — und die Sicherheit erwirbt man nach einiger Uebung rasch —, kann auch nicht die geringste Quantität des Einschlussharzes über den Rand der Deckplatte treten und man wird der Mühe des Abputzens vollständig überhoben sein und dennoch höchst saubere Präparate erhalten.

Die so hergestellten Präparate hebt man bis zum völligen Austrocknen des Einschlussmittels und der damit erfolgenden Befestigung des Deckglases am besten in horizontaler Lage, mit nach unten gekehrtem Deckglas auf, damit etwa abgelöste Formen sich in dem noch plastischen Medium wieder durch ihr eigenes Gewicht auf jenes, also in denselben optischen Horizont, lagern können. Ich habe mir zu dem

Zweck einen Blechkasten von $26,5 \times 7,8$ Centimeter anfertigen lassen, in den eine Anzahl aus schwacher Pappe (Carton) geschnittener Rahmen eingepasst ist, auf welche die Präparate schichtweise gelegt werden. Jede Lage umfasst 10 Stück englischen Formats und sind die Rahmen so eingerichtet, dass die Deckgläschen weder von unten, noch von der Seite berührt werden. Der besseren Luftcirculation wegen sind die Seitenwände desselben mit einer Anzahl Oeffnungen versehen. Solche Kästen kann man zur Förderung des Trockenprocesses auch sehr wohl in oder auf Oefen stellen, doch sollte man zu diesem Behufe immer nur mässig erwärmte (höchstens $50-60^{\circ}$ Cels.) Stellen aussuchen, da allzusehr Austrocknen den Präparaten nicht zuträglich ist.

Das oft empfohlene Glühen der Deckgläschen, nachdem das aufgetragene Material angetrocknet ist, ist bei Verwendung gut und sorgfältig gereinigten Diatomaceen-Materials nicht nur vollständig überflüssig, sondern in zahlreichen Fällen sogar höchst nachtheilig, da viele Formen durch das Erhitzen Risse erhalten und manche sich auch schwärzen, so dass sie wie verkohlt aussehen. Letzteres ist auch namentlich bei den häufig in fossilem Material auftretenden Radiolarien und Kieselkörpern von Spongien der Fall. Eine Ausnahme jedoch ist zu machen bei Herrichtung von Testobjecten aus Formen sehr zarter Structur (Pleurosigma, Navicula rhomboides etc.), da es sich hier in der Hauptsache darum handelt, im optischen Interesse die Schalen so dicht auf der Glasfläche haftend zu machen, dass keine Luftschicht dazwischen liegt und etwaige Beschädigungen der Ersteren durch Sprünge auch in diesem Falle nicht sonderlich in Betracht kommen, sobald nur die Structur gut erhalten bleibt.

Man erhitzt die Deckgläschen zu dem Zweck auf einer dünnen, vollständig planen Silber- oder Platinplatte bis nahezu zur Rothgluth über einer lebhaften Spiritusflamme kurze Zeit, doch muss dies mit äusserster Behutsamkeit geschehen, da sich dieselben bei zu starker Hitze leicht werfen oder sogar auf dem Platinblech in unlösbarer Weise aufschmelzen, wodurch beide unbrauchbar werden.

Sollen die Diatomaceen trocken, also eigentlich mit Luftabschluss eingelegt werden, muss der Objectträger vorher mit einer Lackzelle in Gestalt eines Ringes von der Grösse des Deckgläschens versehen werden, welchen man mit Hilfe des Drehtisches herstellt. Es empfiehlt sich am meisten, hierzu eine consistente, alkoholische Schellacklösung; auch in Chloroform oder Aether gelöster Canada-Balsam, wie eine Lösung von gutem syrischen Asphalt in Terpentin mit ein

wenig Wachs oder Paraffin versetzt, um das Sprödwerden oder Abspringen desselben zu verhindern, können angewandt werden.

Zu beachten ist, dass die Ringe gut ausgetrocknet sein müssen, damit sich später, nach Verschluss der Zelle, keine Ausdünstungen entwickeln, durch welche das Präparat leicht verdorben werden könnte.

Ernstlich zu warnen ist vor Verwendung des Dr. Kaiser'schen Maskenlackes, so vorzüglich derselbe sich sonst als Einschlussmittel bewährt, da mit ihm hergestellte Trockenpräparate durch Ablagerung kleiner dunkler Partikel auf der Innenseite des Deckglases, die vom Ring aus nach dem Innern fortschreitet, allmählich gänzlich verdorben werden, wie ich und verschiedene mir befreundete Herren zu unserem Schaden erfahren mussten. Man legt das Deckgläschen mit den Diatomaceen-Material mittelst der Pincette concentrisch auf den Ring und fährt dann mit einem heissen Glas- oder Metallstäbchen sanft und vorsichtig über den Rand des Ersteren, bis die durch dasselbe dringende Wärme die Oberfläche des Ringes soweit schmilzt, dass die Deckplatte angekittet wird, was man leicht durch den Augensehein erkennt, doch ist darauf sorgfältig zu achten, dass keine offene Stelle bleibt, durch welche später der Abschlusslack eindringen und das Präparat verderben könnte. Als letzterer ist der erwähnte Kaiser'sche Maskenlack zu empfehlen.

Wenn es gilt, sogenannte „gelegte Präparate“ herzustellen, die nur eine beschränkte Anzahl und zwar ausgesuchter Diatomaceen enthalten, ist das Verfahren ein wesentlich mühevolleres und umständlicheres, und die Anforderungen, welche an das manuelle Geschick, an die Ausdauer und Accuratesse des Präparators gestellt werden, sind ungleich höhere, als bei den bisher beschriebenen Verfahren. Wenn ferner bei jenen der Gebrauch eines Präparirmikroskopes wenigstens wünschenswerth erschien, ist derselbe hierbei unumgänglich und ich stehe nicht an, zu erklären, dass ohne ein solches derlei Arbeiten nicht oder doch nur im allerbeschränktesten Maasse zur Ausführung gelangen können.

Zunächst wird das Material, welches die auszusuchenden Formen enthält, auf grössere Deckgläser (12—18 mm) ganz in der oben beschriebenen Weise aufgetragen und nach dem Eintrocknen gut vor Staub geschützt aufbewahrt. Falls die gewünschten Formen nur sehr spärlich in dem bezüglichen Material vorkommen sollten, thut man gut, erst eine Anzahl solcher Platten unter dem Präparir-Mikroskop

abzusuchen und die gefundenen Formen auf einem zweiten Deckglas zu sammeln, bevor man sie legt.

Man befestigt zu dem Zweck — von complicirteren Vorrichtungen will ich hier absehen — am einfachsten beide Deckgläser — das abzusuchende A mit dem Material und das leere B zum Ansammeln der gefundenen Formen — auf einem Objectträger dicht nebeneinander, indem man Ersteren anhaucht und die Gläserchen leicht andrückt, so dass sie durch Adhäsion haften. Das Aussuchen selbst geschieht, wie alle darauffolgenden Manipulationen, unter Anwendung schwächerer und mittlerer Vergrößerungen (30 — 60 fach). — Fassen und Uebertragen der Diatomaceen bewerkstelligt man mit einem 15—20 cm langen, dünnen Stäbchen, an dessen einem etwas zugespitzten Ende eine sehr spitze Borste befestigt ist. Am geeignetsten hierzu sind die Augenwimpern des Schweins oder die Borsten vom Vordertheil des Igels, weil dieselben einerseits steif und elastisch, andererseits mit sehr fein auslaufenden Spitzen versehen sind. Da unter beiden die verschiedensten Stärkegrade vorkommen, kann man sich, je nach Bedürfniss, die geeigneten Nummern aussuchen, denn es ist zweckmässig, mehrere solcher Stäbchen mit Borsten verschiedener Stärke und Spitze zur Verfügung zu haben. Die Borsten befestigt man, indem man die Spitze des Stabes spaltet, erstere einlässt und mit Leim oder Schellack einkittet.

Die auf Platte A aufliegenden Formen haften bei der geringsten Berührung an der Spitze der Borste und können so leicht auf B übertragen werden, wo man dieselben wieder an der Oberfläche abstreicht. Es empfiehlt sich, die Schalen auf der Sammelplatte B, der leichteren Uebersichtlichkeit wegen, nahe zusammen und womöglich so zu legen, wie sie gebraucht werden, also z. B. Eupodiscus und ähnliche gewölbte Formen mit der convexen Seite nach unten.

Es ist diese Manipulation selbstverständlich mit der grössten Achtsamkeit und Vorsicht auszuführen und namentlich dabei zu vermeiden, dass der Athem die Deckplatte treffe oder dieselbe Erschütterungen ausgesetzt werde, weil dadurch das Ergebniss stundenlanger Arbeit und Mühe häufig in einem Moment in Frage gestellt werden kann, indem die ausgesuchten und natürlich nicht fest haftenden Formen dabei leicht verloren gehen können.

Zur Abhaltung des durch das Athmen entstehenden Luftzugs bedient man sich mit Vortheil eines handgrossen Stückes Carton, welches links und rechts durchbohrt und mit einem Stück Bindfaden durchzogen wird. Nimmt man letzteren zwischen die Zähne, legt sich der Carton im Bogen

als Schirm vor Mund und Nase und das Präparat kann nicht mehr getroffen werden.

Bei größeren Formen, namentlich solchen, die keine ebenen Flächen besitzen, sondern mehr oder weniger gebogen oder gewölbt sind und deshalb nur sehr geringen Halt auf der Glasfläche haben können, tritt die Gefahr des Verlustes in Folge Abspringens von der Borste oder von der Sammelplatte am häufigsten ein, man kann sich aber dagegen auf die Weise helfen, dass man die Platte, damit die ausgelesenen und übertragenen Diatomaceen darauf haften, vor Beginn des Aussuchens mit einer ganz dünnen Schicht einer sehr langsam verdampfenden Flüssigkeit anfeuchtet, wozu namentlich Petroleum sich eignet, welches man zum Zweck dünnster Vertheilung stark mit Benzin oder Petroleum-Aether versetzt. Es genügt dann, ein Tröpfchen dieser Flüssigkeit auf die Platte zu bringen, welches sich sofort über dieselbe ausbreiten und nach dem baldigen Verdampfen des flüchtigeren Bestandtheils einen äusserst dünnen Ueberzug von Petroleum auf der Oberfläche zurücklassen wird. Auch die Borste wird dann zweckmässig mit derselben Flüssigkeit in ganz geringem Grade feucht erhalten. Die feuchte Schicht wird, wenn sie ihren Zweck erfüllt hat, unter vorsichtiger, langsamer Erwärmung der Sammelplatte verdampft, worauf die Diatomaceen sich wieder leicht von der Letzteren abheben lassen.

Das Montiren der so ausgesuchten Diatomaceen setzt unter allen Umständen die Anwendung eines Klebemittels zur Befestigung auf das Deckglas voraus. Dieselben müssen in einem solchen Maasse fixirt werden, dass sie weder durch das Einschlussmittel, noch durch das Auflegen jenes oder gelegentliche Erschütterungen abgelöst werden, sondern unbeweglich in der ihnen gegebenen Lage und auf der ihnen angewiesenen Stelle beharren, bis die gesammte Einschlussmasse gänzlich durch Austrocknen gehärtet ist, was die vollständige Unlöslichkeit der Befestigungsmasse im Einschlussmittel erfordert; erforderlich ist dabei ferner, dass beide sich optisch homogen verbinden.

Von den wenigen Harzen, die diese Ansprüche erfüllen, eignet sich Schellack am besten zu dem gedachten Zweck.

Man löst zu dem Behuf gebleichten oder hellblonden rohen Schellack in viel Aether und filtrirt die Lösung durch Knochenkohle, die vorher gut mit Aether ausgelaugt wurde, gegebenen Falls wiederholt, bis die Lösung, wenn man von derselben einen Tropfen auf einen erwärmten Objectträger zum raschen Eintrocknen gebracht hat, unter dem Mikroskop

vollständig klar und homogen erscheint. Sollte dies durch Filtriren nicht gänzlich zu erreichen sein, was häufig in der Qualität der Knochenkohle seinen Grund hat, wird man gut thun, dieselbe noch längere Zeit — unter Umständen wochenlang — stehen zu lassen, wodurch sich die noch darin enthaltenen kleinen, ungelösten Partikelehen allmählich absetzen; die vollständig geklärte Flüssigkeit wird dann mit Vorsicht abgegossen oder abgezogen. Nach Bedarf kann man dieselbe durch Eindampfen verdicken oder auch vollständig fest werden lassen, um sich eine alkoholische Lösung davon herzustellen.

Der Modus operandi ist nun der, dass man die betreffenden Deckgläschen auf einem Objectträger leicht erwärmt und einen Tropfen der Lösung mit Hilfe einer kleinen Pipette oder eines Glasstäbchens auf die Mitte der Ersteren fallen lässt, wo derselbe, indem er sich rasch ausbreitet, augenblicklich erhärtet.

Deckplatte B mit dem ausgesuchten Material und ein mit der Schellackschicht versehenes Deckglas C*) werden nun abermals in der bereits demonstrirten Weise nebeneinander auf einem Objectträger befestigt; damit C eine haftende Oberfläche erhalte, wird wieder ein Tröpfchen von der erwähnten Petroleumlösung darauf gegeben, welches sich rasch ausbreitet und den Schellack feucht erhält, ohne ihn zu lösen oder sonst wie zu verändern.

Beim Uebertragen der Formen von B auf C ist natürlich darauf zu sehen, dass man dieselben genau auf die Mitte des Deckgläschens legt.

Die Diatomaceen haften auf der feuchten Fläche leicht und lassen sich nöthigenfalls auch ohne Schwierigkeit in die richtige Lage schieben, wenn diese nicht gleich getroffen sein sollte. Ist man mit dem Arrangement fertig, wird das Gläschen mit einem kleinen Uhrschälchen bedeckt, um es vor Staub zu schützen, und auf dem Objectträger über einer Spiritusflamme soweit erwärmt, dass die Petroleumschicht langsam verdampft und die Diatomaceenschalen durch Schmelzen des Schellacks angekittet werden, was sich leicht unter dem Präparirmikroskop controliren lässt.

Da man hier leicht des Guten zu viel thun, d. h. den Schellack verbrennen kann, muss dies natürlich unter Beobachtung grosser Vorsicht geschehen.

Das Einschlussharz wird dann in der früher beschriebenen Weise aufgetragen und der Verdunstung unter einem

*) Man benutzt hierzu am besten Deckgläschen von 6—8, höchstens 10 mm Durchmesser.

staubdichten Verschluss bis zur vollständigen Erhärtung überlassen. — In der Natur der Sache liegt es, dass hierfür nur Lösungen in Benzin, Benzol, Toluol oder Xylol verwandt werden können, Stoffe, durch welche der Schellack weder gelöst noch verändert wird; alkoholische oder Chloroform-Lösungen sind wegen ihrer lösenden Wirkung auf diesen unter allen Umständen auszuschliessen.

Hat man es mit sehr robusten Formen zu thun, so erscheint es rätlich, das Einschlussharz zum Schutze derselben in etwas stärkerer Schicht aufzutragen.

Nach dem vollständigen Erhärten der Letzteren legt man das Deckgläschen auf den Objectträger, welchen man vorher mit einem Tröpfchen Einschlussflüssigkeit versieht und drückt es leicht und möglichst gleichmässig an, so dass diese auf der Seite heraustritt, von wo sie mit einem in Chloroform gefeuchteten reinen Pinsel auf dem Drehtisch in säuberlichster Art weggenommen werden kann. — Bis zum vollständigen, sehr bald erfolgenden Austrocknen der zugesetzten Lösung verwahre man das Präparat wie bereits beschrieben.

Einen sehr hohen Grad von Sicherheit gegen das Verschieben oder Zerbrechen der gelegten Formen beim Auflegen des Deckglases gewähren ringförmige Zellen aus Glas oder Zinnfolie. Erstere können von Stender in Leipzig und J. D. Möller in Wedel bezogen werden; letztere führt E. Thum in Leipzig in verschiedenen Grössen und Stärken. Dieselben werden am besten vor dem Legen der Diatomaceen gleichfalls mit Schellack auf das präparirte Deckglas gekittet, doch ist darauf zu sehen, dass die Zinnringe durchaus plan sind. Selbstverständlich kann auch hierbei das Auflegen auf den Objectträger erst stattfinden, wenn die die Zelle vollständig ausfüllende Einschlusslösung gänzlich ausgetrocknet und hart ist.

Beim Trockenpräpariren kann aus optischen Gründen Schellack als Befestigungsmittel nicht verwandt werden und muss man daher nach anderen Mitteln greifen.

Handelt es sich um sehr zarte und platte Formen, kann man eine durch rectificirten Alkohol und destillirtes Wasser sehr stark verdünnte Lösung ganz reinen, säurefreien Glycerins als Heftmittel verwenden. Die dadurch hergestellte, äusserst dünne Glycerinschicht bleibt lange feucht und lässt sich durch vorsichtiges Erhitzen vollständig und ohne jeglichen Rückstand verdampfen, wenn die drei Flüssigkeiten durchaus chemisch rein waren. Die arrangirten Diatomaceen legen sich sehr fest auf die Oberfläche des Deckgläschens

und haften auch nach dem Verdampfen der Flüssigkeit so, dass sie jeder Erschütterung widerstehen.

Bei derberen, namentlich gebogenen Formen ist der Lösung eine äusserst geringe Menge gut geklärten Gummi-arabicums zuzusetzen, doch ist in diesem Falle beim Austrocknen mit grosser Vorsicht zu verfahren, damit keine Ueberhitzung und Bräunung des Klebemittels eintritt.

Legt man robustere und zartere Formen gemischt, sind jene zuerst zu legen und anzutrocknen, letztere nachträglich aufzutragen, da sie sonst leicht Klebeflecke erhalten, durch die zartere Strukturen an Schärfe verlieren oder gänzlich unsichtbar werden. Der Einschluss erfolgt in der Art, wie derselbe bei den Massenpräparaten beschrieben wurde.

Es braucht wohl nicht weiter hervorgehoben zu werden, dass in vorstehender, bei weitem nicht erschöpfender Anleitung die verschiedenen Verfahren nur ganz cursorisch behandelt werden konnten; es würde viel zu weit geführt haben, all' die zahlreichen kleinen Vortheile, Handgriffe, Maassregeln, Auskunftsmitel und Kniffe, welche in dem einen oder anderen Falle zur Anwendung gelangen müssen, hier auseinanderzusetzen, oder die unzähligen kleinen Hilfsmittel und Geräthschaften, durch welche die verschiedenen Manipulationen unterstützt und erleichtert werden, aufzuzählen und zu beschreiben. Was erstere anbelangt, so bildet sich jeder, der sich eingehender mit derlei Arbeiten beschäftigt, bald seine eigene Praxis und seine eigenen Methoden aus und wie auf anderen Gebieten, so ist es auch hier der Fall, dass dasselbe Ziel mit gleicher Sicherheit auf verschiedenen Wegen erreicht werden kann; in Betreff der Letzteren aber sei hier auf den soeben erschienenen „Katalog III von Eduard Thum's Institut für Mikroskopie in Leipzig“ (Brüderstrasse 35) verwiesen, welcher eine Zahl solcher Hilfsmittel verzeichnet, auf die hier näher einzugehen der Raum verbot.

Hepaticarum species novae vel minus cognitae.

Von F. Stephani, Leipzig.

(Mit Tab. III et IV.)

II.

Lepidozia bicruris. Steph. n. sp.

Dioica, albicans, subtilissima, intricata. Caulis usque ad 3 cm longus, e basi amphigastriorum per intervalla

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Hedwigia](#)

Jahr/Year: 1885

Band/Volume: [24_1885](#)

Autor(en)/Author(s): Debes Ernst

Artikel/Article: [Die Herstellung von Diatomaceen-Dauerpräparaten.
151-166](#)