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

Strahlen des Lichtes unter verschiedenen Winkeln hindurchließ, die Krümmung der Flaschenwände benutzend.

Augenscheinlich ist das der superdiafragmale Teil der Tentakelscheide. Von Zeit zu Zeit wird das Polypid krampfhaft in die Cyste hineingezogen und, falls es nicht tief heruntersinkt, so faltet sich der Kragen fächerartig und ragt lange Zeit über den Deckel der Zelle.

Das ganz hervorgetretene Polypid, welches sich bald mit seinem ganzen Körper über den Rand der Öffnung biegt, entfaltet röhrenförmig den Tentakelkranz und fängt sehr kleine pflanzliche und tierische Organismen auf.

Die Tentakelwimpern, welche augenscheinlich die ganze Oberfläche der Tentakel bedecken, erfüllen durch ihre allgemeine Bewegung in der Richtung des Mundes die Funktion einer Schraube. Dank diesem wird die Nahrung rasch herbeigeführt und wie in einem Strudel in die Mundöffnung hineingezogen.

Ich habe noch kein einziges Mal gesehen, daß das Polypid etwas nicht Lebendiges verschluckt hätte. Im Gegenteil habe ich bemerkt, daß die Tentakel jede nicht taugliche Nahrung absondern und wegstoßen. Das Rectum leert sich periodisch aus, seinen Inhalt ebenso schnell und kräftig wie den braunen Körper ausstoßend. Die Excremente, im Wasser schwimmend, behalten sehr lange die Gestalt einer Ellipse, der Gestalt des Rectums korrespondierend. Solche Körperchen verunreinigen oft eine mehrreihige Kolonie der Bryozoen. Der Prozeß des Durchganges der Excremente durch die letzte Abteilung des Rectums — durch seinen schmalen Teil — geschieht mit großen Anstrengungen. Die ganze dünne Schlinge des Rectums, welche bei der Invagination sich passiv verhält, fällt bis zu dem von Tentakeln umgebenen Ende der Scheide, wo der Anus sich öffnet. Während der Devagination vor der Auslehrung nimmt sie eine vollständige gerade Lage an und umschlingt die Wandung der Scheide. Das ist auf der Zeichnung (Fig. 7) dargestellt.

2. Über das Fixieren von Insektenlarven, besonders während der Metamorphose.

Von Dr. W. Docters van Leeuwen,
Assistent am histologischen Institut zu Utrecht.

eingeg. 26. August 1907.

Jeder, der die Arbeiten über die Veränderungen während der Metamorphose der Insekten durchgesehen hat, wird sich wundern über die wenig subtilen Methoden, die von den Untersuchern beim Fixieren von Larven und Puppen angewendet werden. In vielen Arbeiten findet

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

man fortwährend Klagen über die Schwierigkeiten, welche einer guten Konservierung der für die Metamorphose wichtigen Stadien im Wege stehen; und als ich voriges Jahr meine Untersuchungen über die Anatomie und Metamorphose des Darmkanals von *Isosoma*[1] begann, habe ich erst viel Zeit dazu gebraucht, eine gute Fixationsflüssigkeit zu finden. Denn die von verschiedenen Untersuchern gebrauchten Methoden brachten mich nicht an das gewünschte Ziel. Da eine Abhandlung über meine Untersuchungen erst nächstes Jahr in deutscher Sprache in der Zeitschrift der Ned. Dierk. Vereeniging erscheinen wird, so möchte ich hier im voraus eine Besprechung der Methoden geben, welche ich zur Erlangung meiner Resultate angewandt habe.

Ich bin der Ansicht, daß es für eine Untersuchung der histologischen Veränderungen während der Metamorphose durchaus nötig ist, eine Konservierungsflüssigkeit zu besitzen, welche jedes in Betracht kommende Organ für sich vorzüglich fixiert, und dies ist mit den meisten bis jetzt üblichen Methoden durchaus nicht der Fall.

Man hat natürlich zwei Möglichkeiten. Erstens kann man für einzelne Organe die Tiere einfach zerstückeln, und dann sind alle Methoden zu gebrauchen, welche man sonst für bequem zu fixierende Gewebe kennt; aber es ist doch oft sehr wünschenswert, und bei kleineren Larven durchaus notwendig, die ganzen Tiere zu fixieren, und ich bin denn auch nicht einverstanden mit Schwabe[2], welcher dieses Verfahren für absolut verfehlt hält. Im Gegenteil war es eine wichtige Sache, eine Flüssigkeit auszuprobieren, welche sehr rasch eindringt und die Elemente der Tiere gut erhalten würde.

Die Insekten und ihre Larven haben immer in üblem Ruf gestanden wegen ihrer derben Chitinhaut, wodurch sie fast undurchdringlich sind für die meisten gebräuchlichen Konservierungsflüssigkeiten. Man hat sich dann andern Methoden zugewandt, und am meisten wurden die Tiere mittels warmen Wassers fixiert. Bei 60 und 70° werden die Gewebe fest und dann durch Alkohol weiter gehärtet. Ein nachfolgendes Fixieren in andern Flüssigkeiten hat m. E. wenig Sinn, da die Gewebe schon erstorben sind und es nicht nötig ist, sie noch einmal in ein andres Fixationsmittel zu bringen. Auch gibt es eine Methode, die Tiere sofort in ein bis 70° erhitztes Fixativ zu bringen, z. B. Sublimat oder Zenckersche Flüssigkeit, aber es ist dabei sicher, daß zuerst die Temperatur einwirkt und nur sehr lange nachher das Konservationsmittel selbst. Es ist selbst sehr die Frage, ob das Sublimat wirklich eindringt.

[1] W. Docters van Leeuwen, Over den fijneren bouw en de veranderingen gedurende de metamorphose van het darmkanaal en zijn aanhangselen van *Isosoma graminicola*. Amsterdam 1907. Inaugural-Dissertation.

[2] J. Schwabe, Zoologica Heft 50, 1906.

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

Sehr sonderbar verfährt Karawaiew[3]. Er tötet die Larven von *Anobium paniceum* mittels heißen Wassers, durchfriert die Tiere sofort mit verdunstendem Äther; dann schneidet er ein Stückchen von den Larven ab und wirft sie noch einige Zeit in ein Fixativ. Man fragt sich beim Lesen, wozu diese sonderbare Behandlung diene, und jeder, welcher einigermaßen mit der histologischen Technik vertraut ist, wird ein derartiges Verfahren mißbilligen müssen. Ich habe erst verschiedene von den gebräuchlichen Methoden ausprobiert, wie Fixieren mittels heißen Wassers, und andern heißen Flüssigkeiten, aber keins konnte mich ganz befriedigen. Mit den meisten Mischungen, kalt verwendet, bekommt man sehr schlechte Resultate. Die Tiere sind sehr leicht und bleiben auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen, und wenn sie endlich getötet sind, so sind sie meistens ganz verdorben. Speziell Sublimatmischungen geben keine guten Präparate. Auch ist es nicht möglich ein kleines Loch an der Chitinhaut anzubringen, denn durch die Spannung der Chitinhaut wird dann eine große Menge der Gewebsteile aus diesem Loch herausgepreßt, so daß die Lagerung der Teile im Innern große Änderungen erfährt.

Ich habe deshalb längere Zeit nach einer Flüssigkeit gesucht und verschiedene Mischungen ausprobiert, welche die Larven und speziell die ersten Stadien der Metamorphose gut fixierten.

Verwundern mag es sicher, daß das vorzügliche Gemisch von Carnoy (Chloroform usw.) so wenig gebraucht wird; denn dieses hat mir vornehmlich bei jungen Larven sehr gute Resultate geliefert.

Ich habe besonders Chloroform verwendet, da die Tiere darin sofort sterben. Es war dabei nötig, ein Quantum Alkohol zuzusetzen, um das Chloroform mit den andern Flüssigkeiten mischen zu können.

Die Mischung, welche ich nun mit bestem Erfolg gebraucht habe, besteht aus:

Pikrinsäure 1 % in Alcohol absolutus 6 Teile, Chloroform 1 Teil, Formol (40 %) 1 Teil, Eisessig $^1/_2$ Teil oder weniger.

Ich halte mir immer eine Mischung der ersten drei Flüssigkeiten vorrätig und füge dann vor dem Fixieren den Eisessig hinzu. Kleine Tiere ließ ich einige Stunden, größere Larven, Puppen und Imagos bis zu 24 Stunden in dieser Flüssigkeit verweilen; doch schadet ein längeres Darinbleiben nicht besonders. Die Tiere werden sodann einige Tage mit 96 % igem Alkohol ausgewaschen und dann aufbewahrt oder weiter behandelt. Es ist nicht gut möglich, die Pikrinsäure ganz aus den Geweben zu vertreiben; Larven, welche ich voriges Jahr fixiert habe,

---

[3] Über Anatomie und Metamorphose des Darmkanals der Larve von *Anobium paniceum*. Biol. Centralbl. Bd. IX, 1899.

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

färben den Alkohol noch immer gelb, aber dies schadet bei den meisten Färbungen gar nichts.

Ich kann diese Methode jedem, welcher sich mit der Histologie von Insekten und ihren Larven beschäftigt, nicht warm genug empfehlen.

Mir hat diese Flüssigkeit immer vorzügliche Resultate geliefert, und verschiedene Untersucher, welche diese Methode gebrauchten, waren mit ihrem Erfolge sehr zufrieden.

Die Vorteile vor den andern Methoden treten von selbst hervor. Erstens ist die Fixierung eine sehr rasche; zweitens sehr bequem auf Exkursionen auszuführen, da man ohne eine besondere Manipulation die Tiere bequem in die Flüssigkeit werfen und am folgenden Tage mittels Alkohol diese wieder vertreiben kann. Die Tiere sind immer viel schwerer als die Flüssigkeit und sinken sofort, strecken sich gerade aus, wie sie im Leben waren. Ein Beweis für die gute, schnelle Tötung ist sicher, daß besonders im Centralnervensystem zahlreiche Kernteilungen zu sehen waren, und man kann aus der Literatur ersehen, wieviel Streit gerade dieser Punkt zwischen den verschiedenen Untersuchern verursacht hat. Jetzt will ich in Kürze die verschiedenen Stadien der Insekten besprechen, welche ich selbst zur Prüfung meiner Mischung gebraucht habe.

Die Fixierung der Insektentiere mit ihrer derben Chitinhaut bringt allen Methoden große Schwierigkeiten, und bis jetzt ist eine gute Konservierung von allen Eiern sicher noch nicht zu erwarten. Ich sah aber, daß Nussbaum und Fulinsky[4] gute Resultate mit Sublimat + HNO_3 bei Eiern von *Phyllodromia* (*Blatta*) *germanica* hatten. Ich selbst habe mit meiner eignen Mischung Eier von *Biorhiza aptera*, von einem *Nematus* spec., von einem mir noch unbekannten Homopteron sehr gut fixiert.

Zahlreiche Larven habe ich nun schon mit diesem Gemisch behandelt, und aus folgendem wird man ersehen können, daß ich aus verschiedenen Insektenordnungen Repräsentanten genommen habe.

Von Hymenopteren nahm ich Larven von *Isosoma* und einigen parasitischen Chalciden, von zahlreichen Gallenwespenarten; weiter Larven von Coleopteren, *Mecinus villosulus* und *beccabungae*, *Tenebrio monitor*; von Dipteren: *Lipara lucens* und *rufitarsus*, *Cecidomyia rosaria*, *Chlorops taeniopus*, *Chironomus plumosus*. Am meisten findet man Klagen über das Fixieren von den ersten Puppenstadien, und ich kann mit Freude versichern, daß ich von den meisten dieser Tiere Nymphen und vornehmlich Pronymphen gut erhalten habe, und auch die Imagos gaben nicht viel Schwierigkeiten; da aber hier die verschiedenen Gewebe fester sind als bei den Larven, machte ich meistens

[4] Zool. Anz. Bd. XXX. Nr. 11/12. S. 362.

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

eine Öffnung in den Thorax, um das Eindringen der Flüssigkeit zu erleichtern. Auch Rosenläuse habe ich so behandelt, und dabei will ich speziell darauf aufmerksam machen, daß die Embryonen im Abdomen dieser Tiere auch schön erhalten waren und ebenso parasitische Larven, welche sich in dem fixierten Tier der andern Insektenorden befanden.

Meine Folgerung ist also, daß es absolut nicht nötig ist, allerlei grobe Konservationsmittel zu gebrauchen, sondern daß man mit einer viel einfacheren Methode (bequemer und) bessere Resultate bekommen kann. Man hat natürlich viel Insekten, welche selbst als Larven von einer so derben Chitinhaut bedeckt sind, daß sie kaum oder gar nicht verwendbar sind, aber bei der enormen Zahl der nicht untersuchten Formen ist es bis heute noch ganz unnötig, diese Tiere zu bearbeiten. Eine große Anzahl von den leicht zu studierenden Formen harrt der Bearbeitung. Und wenn alle diese untersucht sind, und das wird wohl noch viele Jahre in Anspruch nehmen, so werden gewiß die Methoden für die Untersuchung der schwierigen gefunden sein.

Unter den vielen untersuchten Insekten ist *Tenebrio* wohl diejenige mit der derbsten Chitinhaut. Während des Druckes dieser Seiten bekam ich die Arbeit von Saling[5]. Er gibt darin eine Methode zum Fixieren der Larven an. Er kocht diese regelrecht mit Eau de Labarraque, und schreibt, daß er damit gute Resultate bekommen hat. Früher hatte ich diese Tiere mit Eau de Javelle behandelt, bekam aber keine gute Fixierung. Die Organe waren nicht verschoben, doch in ihren feineren Details sehr verzerrt. Leider stand mir kein Eau de Labarraque zur Verfügung, um das Verfahren von Saling nachzuprüfen.

Aber nach meinen Angaben sind die Tiere nicht so zu behandeln, da das Chitin beim Schneiden keine Schwierigkeiten macht und man mit meinem kalten Gemisch alles gut erhalten kann. Ich habe zur Prüfung noch einige Larven von 1—2½ cm behandelt und machte das Gemisch etwas mehr sauer. Die Larven wurden mittels Benzol in Paraffin eingebettet und die großen erst in zwei Stücke zerlegt. Dann konnte ich von den kleineren Larven ohne Mühe Längsschnittserien bekommen und von den größeren Querschnittserien von 6—8 μ. Man braucht nur ein äußerst scharfes Messer, ein festes Mikrotom und Paraffin von 58 bis 60° anzuwenden. Das Chitin macht Beschwerden beim Fixieren, nicht beim Schneiden, und ich habe mit dem angegebenen Pikrinsäuregemisch eine gute Fixierung bekommen. Für Längsschnitte der erwachsenen Larven, welche sicher wohl allein zur Orientierung nötig sein werden, kann man die Methode von Saling sicherlich gut gebrauchen. Ich weise weiter auf das, was Schwabe[2] über die Technik der Insektenhistologen gesagt hat, hin.

[5] Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 86. 1907. S. 238.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zoologischer Anzeiger

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: 32

Autor(en)/Author(s): Docters W.

Artikel/Article: Über das Fixieren von Insektenlarven, besonders während der Metamorphose. 316-320