

MITTEILUNGEN

des

Botanischen Vereins

für den

Kreis Freiburg und das Land Baden.

№ 49 & 50. Erscheinen in zwanglosen Heften, welche allen Mitgliedern unentgeltlich durch die Post zugeschickt werden. 1888.

Beiträge

zur

Technik der mikroskopischen Dauerpräparate.

Von Dr. L. Klein.

Vorliegende Zeilen erheben nicht den Anspruch wesentlich Neues zu bringen, sie erheben auch nicht den Anspruch, das Thema einigermaßen erschöpfend zu behandeln, sie wollen nur, und das dürfte vielleicht manchem Leser unserer „Mitteilungen“ erwünscht sein, ein Recept geben zu einem leicht herzustellenden, guten und was die Hauptsache ist, zu einem haltbaren mikroskopischen Dauerpräparate, ein Recept, welches ich auf Grund zahlreicher eigener Versuche als das derzeit beste erkannt habe.

Wer sich eingehend über diese Technik zu orientieren wünscht, der sei ein für allemal auf Strasburger's botanisches Practicum oder auf Behrens Hilfsbuch der mikroskopischen Technik verwiesen.

Das Anfertigen mikroskopischer Schnitte und ihre vorläufige Behandlung bis zum Einschliessen setze ich als bekannt voraus, das lässt sich ausserdem mit ein paar Worten auch nicht lehren. Nur das Einschliessen selbst soll hier behandelt werden.

Die früher für pflanzliche Objecte allgemein angewandte Conservierung in Glycerin (resp. einer anderen Flüssigkeit, wie Kaliumacetat etc.) habe ich so gut wie vollständig aufgegeben, weil sie einmal, wenn die Präparate haltbar ausfallen sollen, ziemlich zeitraubend ist, und weil zweitens Glycerinpräparate nur sehr vorsichtig geputzt werden dürfen, wenn sie bestaubt sind, damit der

Deckglaskitt nirgends gesprengt wird und in Folge dessen kein Glycerin austritt.

Da aber auch heute noch Glycerin mit Vorliebe verwendet wird, theils aus Anhänglichkeit am Althergebrachten, theils weil Glycerin viel bequemer zu beschaffen ist, als die weit practischere Glycingelatine, so sollen zunächst für Liebhaber von Glycerinpräparaten diese letzteren kurz behandelt werden. Die ewige Klage betrifft hier die schlechte Haltbarkeit. Das Glycerin hat bekanntlich einen dünnen Kopf und weiss — wie so Mancher zu seinem Leidwesen erfahren hat — aus vielen scheinbar gelungenen Präparaten mit der Zeit seinen Weg nach aussen zu finden, um den mit Recht so unbeliebten Luftblasen dafür Platz zu machen, ganz abgesehen von den Verletzungen, die solche Präparate durch Stoss beim Transportieren oder durch Druck auf das Deckglas beim Reinigen erleiden.

Bei einem Glycerinpräparat, das haltbar bleiben soll, darf erstens das Deckglas nirgends den Objectträger berühren. Zu diesem Behufe muss es gestützt werden, und das geschieht am besten folgendermassen:

Unter den gut gereinigten, getrockneten und über einer kleinen Spirituslampe etwas erhitzten Objectträger (um die anhaftende Luft möglichst zu vertreiben) bringe ich ein Deckgläschen oder ein Stück weisses Papier, welches in der Mitte eines aufgezeichneten Rahmens von der Grösse des Objectträgers einen Rahmen von der Grösse des Deckgläschens besitzt, sodann auf die vier Ecken dieses Rahmens je ein kleines Tröpfchen Wachskitt (besser wie reines Wachs), darauf in die Mitte der vier Tröpfchen einen Tropfen Glycerin von entsprechender Grösse und in diesen das Präparat. Das ebenfalls gut gereinigte Deckgläschen erfasst man mit Daumen und Zeigefinger an den Kanten, zieht es mit der Unterseite ein paar mal langsam über die Spiritusflamme und setzt es sofort mit zwei Ecken schiefgeneigt auf zwei der Wachskittfüsschen. Dort schmilzt es ein und senkt sich, wenn wir richtig verfahren, mit den beiden andern Ecken genau auf die Mitte der beiden andern Wachskittfüsschen. Nun erwärmen wir das ganze Präparat vorsichtig, die Füsschen schmelzen und das Deckglas sinkt durch seine eigene Schwere herab, den Glycerintropfen ausbreitend. Für zarte Objecte genügt dies, für härtere, wie Holzschnitte und dergleichen, empfiehlt es sich mit dem Finger oder einem Stückchen Holz leicht auf das Deck-

gläschen zu drücken bis der Kitt erkaltet ist; dadurch werden solche Präparate so weit als möglich in eine Ebene gebracht.

Haben wir die Menge des Glycerins richtig bemessen, so erfüllt dasselbe jetzt den ganzen Raum zwischen Deckglas und Objectträger, war es etwas zu wenig, so setzt man ein kleines Tröpfchen an den Rand des Deckglases, von wo aus es rasch die Lücke ausfüllt. Ueberschüssiges Glycerin saugen wir durch Fliesspapier auf. Will man nun direct das Deckglas festkitten durch einen leicht über die Ränder des Deckglases reichenden, mit einem möglichst kleinen Pinsel aufgetragenen ca. 5 mm breiten Rahmen von Deckglaskitt, so ist Hauptbedingung, dass weder Deckglas noch Objectträger durch Glycerin verunreinigt sind, weil hier der Kitt nicht haftet. Ist eine solche Verunreinigung eingetreten, so muss entweder alles Glycerin vollständig entfernt werden, eine mühsame und zeitraubende Procedur, oder man spart sich besser diese, bei nicht vollkommener Reinigung meist erfolglose Arbeit und fertigt einen Rahmen von verdünntem Canadabalsam an, der das Glycerin vollständig verdrängt, also überall haftet, und nach einigen Tagen meist trocknet. Dann lässt sich das überschüssige Glycerin leicht mittelst eines nassen leinenen Lappchens entfernen und theils zu weiterem Schutz, theils des gefälligeren Aussehens halber über den Canadabalsamrahmen ein solcher von Deckglaskitt aufpinseln.

Den Canadabalsam trägt man am besten mit einem langgespitzten Holzspahn auf, dessen Ende so dünn ist, dass es sich wie ein Pinsel leicht biegen lässt; ich finde dies viel practischer als mittelst eines Glasstabes.

Solche Präparate halten sich, sorgfältige Anfertigung und liebevolle Behandlung beim Reinigen vorausgesetzt, gut.

Um die Präparate beim Aufbewahren aufeinanderschichten zu können, klebt man an beide Enden des Objectträgers sogenannte Schutzleisten, rechteckige Cartonplättchen von entsprechender Dicke, welche zugleich als Etikette dienen. Als bestes Klebemittel habe ich hierfür den oben erwähnten Wachskitt gefunden. Derselbe ist eine Mischung aus Colophonium und gelbem Wachs zu gleichen Theilen, die ich in einem kleinen (sogenannten chemischen) Porzellantiegel, welcher in einem aus gewöhnlichem Eisendraht geflochtenen Dreifuss hängt, durch eine kleine Spirituslampe flüssig erhalte. Als Pinsel dient ein zugespitztes Zünd-

holz. Legt man dasselbe quer über das Ende des Objectträgers, so hat man die nöthige Menge Klebstoff für die Schutzleiste; diese braucht nur an eine Tischkante fest angedrückt zu werden, eventuell nach nochmaliger Erwärmung des Objectträger-Endes und das Präparat ist fertig. Derartig befestigte Schutzleisten springen weniger leicht ab als mit Gummi-Glycerin, flüssigem Leim etc. angeklebte, passiert es einmal, so lässt sich der Schaden im Augenblick durch Erhitzen des Präparates mittelst eines Zündhölzchens repariren und schliesslich lassen sich falsch angebrachte Etiketten so am bequemsten auswechseln, ganz abgesehen von dem Umstande, dass das Aufkleben der Schutzleisten mittelst des Wachskittes am raschesten vor sich geht.

Für die Glyceringelatinepräparate gilt genau das gleiche bezüglich der Schutzleisten. Als Einschlussmasse dient Glyceringelatine, bei gewöhnlicher Temperatur von zähgallertiger Beschaffenheit. Das Recept für dieselbe ist folgendes (nach Kaiser):

Man weicht einen Gewichtstheil feinsten französischer Gelatine in sechs Gewichtstheilen destillirten Wassers circa zwei Stunden auf, setzt dann sieben Gewichtstheile chemisch reinen Glycerins hinzu und gibt auf je 100 gr. der Mischung 1 gr. concentrirter Carbonsäure. Man erwärmt hierauf zehn Minuten unter Umrühren bis alle Flocken, die sich bei Zusatz der Carbonsäure gebildet haben, verschwunden sind.

Schliesslich filtrirt man noch warm durch feinste in destillirtem Wasser ausgewaschene Glaswolle, die noch nass in den Trichter gelegt wurde.

Das Filtriren durch Glaswolle ist durchaus nöthig weil Gelatine für mikroskopische Zwecke sehr unrein zu sein pflegt. Derartige Glyceringelatine kann man sich in jeder Apotheke anfertigen lassen. Man braucht sie zum Gebrauche nur zu erwärmen um wie mit Glycerin verfahren zu können. Die Wachskittfüsschen sind aber selbstverständlich unnöthig. Man kann die Gelatine entweder in kleinen Stückchen auf den Objectträger bringen und dort erwärmen, doch hat dies den Nachtheil, dass man häufig mehr Luftblasen mit einschliesst als einem lieb ist. Ich habe mir darum einen einfachen Apparat construirt, der ausserdem die Glyceringelatine als bequemste Einbettungsmasse auch da erscheinen lässt, wo besonders zarte und kleine Objecte nicht ohne Schaden auf einen neuen Objectträger übertragen werden können.

Ein gewöhnliches Probierröhrchen ist 2—3 cm hoch mit Glyceringelatine gefüllt und mit einem durchbohrten Kork verschlossen. Durch den Kork geht ein am unteren Ende etwas ausgezogenes dünnes Glasrohr, das als Pipette wirkt, bis zum Grunde. Dies Röhrchen erhitzt man nun entweder über der Spiritusflamme, oder, was vielfach vorzuziehen, man verflüssigt die Gelatine durch Eintauchen in warmes Wasser. Letzteres Verfahren ermöglicht es, flüssige Glyceringelatine von verhältnissmässig niedriger, bekannter und constanter Temperatur zu erhalten, die, soweit meine Erfahrung reicht, auch zum Einschluss der zartesten oder durch Erwärmen leicht alterierbaren Objecte vorzüglich ist. (Stärkekörner, in wässrigem Brei eingetragen, geben ausgezeichnete Präparate.)

Diese flüssige Gelatine wird in entsprechend grossen Tropfen auf die Mitte der vorher mässig erwärmten Objectträger gesetzt — wird der Tropfen zu gross, so kann man leicht etwas aufsaugen — das Object aus Glycerin (concentrirt oder verdünnt) eingelegt und dann das vorher erwärmte Deckgläschen aufgebracht. Ist der Tropfen seiner Grösse nach richtig bemessen, was sehr leicht zu erreichen ist, wenn man in die Pipette nur so viel Gelatine nimmt, als man braucht und diese herausbläst, so soll keine Gelatine über den Rand des Deckgläschens hervortreten. Die Ausbreitung der Gelatine befördert man, wenn es sich nicht um besonders zarte Objecte handelt, durch leichten Druck auf das Deckglas, ebenso wie die möglichst plane Lage grösserer Schnitte.

Glyceringelatine ist aber auch noch ein ausgezeichnetes Einschlussmittel für mikroskopische Algen und Pilze. Bei letzteren legt man das Object in stark verdünntes Glycerin (circa 1 : 10), lässt das überschüssige Wasser allmähig verdunsten und setzt dann einen Tropfen flüssiger Gelatine darauf. Unter den Algen vertragen fast nur die Cyanophyceen eine derartige Behandlung, vielfach lassen sie sich auch direct aus Wasser in Gelatine übertragen. Die chlorophyllgrünen Algen dagegen müssen erst gehärtet werden, was ich fast ausschliesslich mit Ueber-Osmiumsäure vornehme, entweder durch Einlegen in 1 % ige wässrige Lösung (Einwirkung 1—2 Minuten, gut mit reinem Wasser auswaschen), oder vorzugsweise, bei einzelligen Organismen aus-

schliesslich durch Osmiumsäuredämpfe. Ueber die mit einprocentiger wässriger Lösung gefüllte, schwarze Flasche wird das zu härtende Object einige Minuten — $\frac{1}{2}$ Stunde gebracht und zwar in einem sogenannten Hängetropfen, (kleines Wassertropfchen auf der Mitte des Objectträgers, den man dann umdreht). (Ausprobieren! Das Räuchern schadet so lange nichts, als das Chlorophyll nicht missfarbig, die in den Zellen enthaltenen Oeltröpfchen nicht geschwärzt werden. NB. Vorsicht bei Handhabung der giftigen Osmiumsäure, deren Dämpfe die Schleimhäute von Augen, Nase und Rachen angreifen.) Auf das geräucherte Object setzt man dann 1—2 Tropfen stark verdünntes Glycerin (1 : 10). Zweckmässiger Weise bringt man etwas von dem verdünnten Glycerin in ein flaches Uhrschälchen und lässt es gleichzeitig mit dem Präparate sich concentriren, um von diesem Glycerin dem Präparate nach Bedarf einen oder einige Tropfen zusetzen zu können, so viel, dass nach dem Verdunsten des Wassers gerade noch genügend Glycerin zurückbleibt, um das Präparat vor dem Austrocknen zu schützen. Schliesslich bringt man einen Tropfen verflüssigte Glycingelatine auf das Präparat und verfährt weiter, wie oben geschildert.

Glycingelatine erweist sich selbst für solche Objecte als vorzügliches Einbettungsmittel, welche sich ihrer Schlüpfrigkeit halber nur schwer in Glycerin einschliessen lassen, weil sie nach Aufbringen des Deckglases meist sofort wieder unter demselben hervorgleiten (cf. Behrens, p. 190). So habe ich unter andern *Batrachospermum*, *Hydrurus*, *Tetraspora*, bis 2 mm grosse Colonieen von *Noctoc lichenoides* etc. ohne alle Schwierigkeit in Glycingelatine eingeschlossen und ausgezeichnete Präparate erhalten.

Dringt zu viel Glycingelatine unter dem Deckglas hervor, so lässt sich dieselbe leicht mit einem Federmesser nach dem Erkalten abkratzen eventuell auch noch mit einem nassen Läppchen abwaschen. Solche Präparate bedürfen eines weiteren Verschlusses nicht notwendig, doch ist ein Lackrahmen immerhin zu empfehlen, namentlich, um bei späterem Putzen des Präparates dasselbe nicht durch Theilchen der Glycingelatine zu verunreinigen. Bei einzelligen Algen, von denen man häufig gezwungen ist, mehrere Arten im Gemisch in einem und demselben Präparate einzuschliessen, passiert es nicht selten, dass werthvolle Objecte beim Aufbringen des Deckglases bis hart an den Rand desselben gleiten. Dann darf der

Lackrahmen selbstverständlich nicht übergreifen, er würde diese Objecte ja sonst verdecken, sondern nur bis an den Rand des Deckglases geführt werden, ein Verfahren, das bei Glycerinpräparaten nicht möglich ist.

Ein weit einfacheres Verfahren, grüne Algen, die in Glycerin leicht schrumpfen, zu härten, besteht darin, dass man dieselben in einem Wassertropfen auf dem Objectträger bis gegen den Siedepunkt erhitzt und dann ebenso verfährt, wie bei den mit Osmiumsäure behandelten Objecten. Für alle grünen Algen ist dies Verfahren nicht anwendbar (ausprobieren!). Dagegen leistet es bei Desmidiaceen und besonders bei den gegen Osmium so empfindlichen Zygnaceen vorzügliche Dienste.

Zum Schluss noch ein paar Worte über den mehrfach erwähnten Deckglaskitt. Man verwende nur bestes Material, das ausdrücklich für mikroskopische Zwecke bestimmt ist, nicht etwa gewöhnlichen Asphaltlack vom Apotheker oder Droguisten, an dem man wenig Freude erleben wird; entweder schwarzen Asphaltlack oder sogenannten Maskenlack oder den Heidenreich'schen Deckglaskitt, den ich seit zwei Jahren ausschliesslich benutze. Es ist ein in Leinöl gelöster Bernsteinlack, roth oder blau zu haben in Gläschen (à M. 1.50) von $\frac{1}{8}$ Kilo beim Fabrikanten Ludwig Marx in Mainz. Für Asphaltlack und Gläschen sind empfehlende Firmen u. a.: Paul Stender, Leipzig, Gerichtsweg 9, Heinrich Vogel, Giessen.

„Neue“ Standorte aus der Pfälzer Flora*.

Ein neuer Standort, d. h. das veröffentlichte Vorkommen einer für die betreffende Gegend neuen Pflanzenart, kann nach zwei Richtungen einer Prüfung unterzogen werden.

1. Hat der Standortsangabe ein richtig bestimmtes Exemplar der genannten Art zu Grunde gelegen?
2. Ist der Standort wirklich ein neuer, d. h. bis jetzt noch nicht in der Litteratur verzeichneter?

* Die Redaktion erlaubt sich zu dem vorliegenden Artikel die Bemerkung zu machen, dass ihr z. Z. der Veröffentlichung der kritisierten Standortangaben die Existenz der angezogenen Specialfloren von Schmidt u. Schultz gänzlich unbekannt war.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des Badischen Landesvereins für Naturkunde und Naturschutz e.V. Freiburg i. Br.](#)

Jahr/Year: 1882-1888

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Klein Ludwig

Artikel/Article: [Beiträge zur Technik der mikroskopischen Dauerpräparate. \(1888\) 427-433](#)