

zellen in kurzer Zeit blau, so dass sie sich ziemlich scharf von den übrigen Epidermiszellen abheben, deren Wände nur schwach blau gefärbt sind. Löfflerblau lässt sich mit demselben Erfolge anwenden; ebenso Meyer's Reagens<sup>1)</sup>: die Schnitte, aus Alkohol-Material hergestellt, bleiben  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in 25%iger Kupfersulfatlösung und werden nach dem Auswaschen in destillirtem Wasser mit 50%iger Kalilauge behandelt. —

Bei Anwendung von Kupferoxyd-Ammoniak quillt der Schleim allmählig und nimmt eine hellblaue Farbe an. Jod-Alkohol oder Jod-Jod-Kalium geben keine Reaction; dagegen ist Saffranin in Alkohol sehr gut verwendbar, es färbt den Schleim sehr schön orange bis roth. Alkana-Tinctur bewirkt eine stahlblaue Färbung.

#### Erklärung der Zeichnungen (Tafel VI).

1. Epidermiszelle der Oberseite eines frischen Laubblattes von *Plagianthus pulchellus* (Bonpl.) A. Gray; unter dem Zellkern zwei Aussackungen der Oberwand sichtbar.
2. Epidermiszelle der Oberseite eines Laubblattes von *Althaea officinalis* L. (Alkohol-Material); am Eingange in die sackartige Ausstülpung der Querwand liegt der Zellkern.
- 3—10. Querschnitte durch Epidermiszellen der Oberseite des Laubblattes von *Sidalcea candida*.
  - 3—5: Alkohol-Material, in 96%igem Alkohol untersucht; die Schleimmasse (s) durch eine Membran (m) von dem oberen Theile der Zelle getrennt.
  - 6—7: frisches Material, in Wasser untersucht; die Querwand (m) gerade (6) oder ausgesackt (7);
  - 8: aus Alkoholmaterial nach Zufügung von Wasser; der Schleim (s) ist nicht mehr sichtbar; die Querwand hängt sackartig in den Schleimraum hinein.
  - 9: aus Alkoholmaterial, in Alkohol untersucht.
  - 10: nach Zusatz von Wasser zu dem Präparat 9.
11. Querschnitt durch die Epidermiszelle eines frischen Blattes von *Kitabelia vitifolia* W.

## Beiträge zur Fixirung und Präparation der Süswasseralgen.

Von Ferdinand Pfeiffer R. v. Wellheim (Wien).

(Schluss. <sup>1)</sup>)

Diese ist selbstverständlich, da sie die Wirksamkeit der Säure verringert oder aufhebt, zeitweilig mit einem Glasstäbchen zu entfernen.

An Stelle der deshalb unbequemen Schwefelsäure lässt sich auch wasserfreies Chlorcalcium (geschmolzen und in Stücken) verwenden.

<sup>1)</sup> Kraemer, l. c. pag. 20.

<sup>2)</sup> Vergl. Nr. 2, S. 53.

Dasselbe braucht für die vorliegenden Zwecke keinesfalls chemisch rein zu sein. Seine wasseranziehende Wirkung ist eine langsamere.

Die erwähnte Glycerinmethode ruft bei sorgfältiger Durchführung fast niemals Schrumpfungen hervor und sind deren Resultate die besten.

Ein Nachtheil derselben soll jedoch Erwähnung finden.

Bei vielen Algen gelingt nämlich die vollständige Entfernung des Glycerins durch Alkohol recht schwer und bedarf es dazu längerer Zeit und eines oftmaligen Wechsels desselben. Bleiben aber Spuren von Glycerin zurück und wird das Object in venetianischen Terpentin eingeschlossen, so wird man Anfangs von dem Vorhandensein derselben nichts bemerken. Nach Jahren jedoch treten, vielleicht in Folge des Festwerdens des Einschlussmittels, in solchen Präparaten vorzüglich im und am Objecte selbst, eigenthümlich glänzende Tröpfchen auf, welche dasselbe endlich gänzlich unbrauchbar machen.

In vielen Fällen wird man aber auch mit einer einfacheren Uebertragungsmethode sein Auslangen finden und möchte ich dieselbe besonders dann empfehlen, wenn es sich nicht um die endgiltige Präparation, sondern vorerst um die vollständige Entfernung des Formols, die Extrahirung der Algenfarbstoffe, die Conservirung der Gallertstructuren etc. handelt.

Dr. E. Overton<sup>1)</sup> schlug schon in den „Mikrotechnischen Mittheilungen aus dem botanischen Laboratorium der Universität Zürich“ vor, nach erfolgter Fixirung, das auf dem Deckgläschen befindliche Object, welchem er einen Tropfen 20procentigen Alkohols zusetzte, auf einer Art Schemel in eine gut verschliessbare Krystallisirschale zu bringen, deren Boden mit absolutem Alkohol in einer Schicht bedeckt ist, welche bis zur halben Höhe des Schemels reicht.

Ist die Schale gut verschlossen, so findet eine Diffusion durch die Luft statt und wird — bei so geringer Materialmenge — der Alkohol auf dem Deckgläschen in wenigen Stunden völlig concentrirt sein.

Modificirt man dieses Verfahren in entsprechender Weise, so lässt es sich auch bei grösseren und grossen Quantitäten anwenden. Natürlich findet dann eine Concentration des Alkohols, je nach den Mengen, erst in Tagen oder Wochen statt.

Ich selbst verwende zu diesem Zwecke grössere, mit einer luftdicht aufgeschliffenen Spiegelglasplatte versehene Glasdosen, welche ungefähr 10 Centim. Durchmesser und 5 Centim. Höhe besitzen.

In diese werden je nach Bedarf kleinere oder grössere Glaschälchen von ungefähr 2·5 Centim. Höhe und verschiedenem Durchmesser gestellt. Dieser letztere darf im Verhältnisse zur Materialmenge nie zu klein gewählt werden, da dieselbe in möglichst dünner

---

<sup>1)</sup> Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie von Dr. W. J. Behrens, Band VII, Jahrg. 1890, pag. 12.

Schicht und bei möglichst grosser Oberfläche den Alkoholdämpfen bezw. deren Diffusionswirkung ausgesetzt werden soll.

In diese Schälchen werden die Objecte mit so viel Wasser oder 10procentigem Alkohol übertragen, dass sie von der Flüssigkeit gerade noch bedeckt sind. Die Wahl einer grösseren oder geringeren Höhe dieser Schicht gibt bei empfindlicheren Algen die Möglichkeit, die Concentrirung des Alkohols zu verlangsamen.

Die Schälchen müssen an und für sich schwer genug sein oder durch Aufkitten einer Metallplatte an den Boden so beschwert werden, dass sie, wenn in die Glasdose Alkohol gegossen wird, ihre Standfestigkeit bewahren.

Sind die Schälchen mit dem Algenmaterial beschickt, so giesst man in die Glasdose so viel Alkohol — zumeist genügt 95procentiger — dass der Rand derselben eben noch auf 3 bis 4 Mm. frei bleibt.

Hierauf überlässt man an einem gleichmässig temperirten Orte die luftdicht verschlossene Glasdose sich selbst und hat nur von ungefähr 24 zu 24 Stunden dafür zu sorgen, dass der Inhalt jedes Schälchens mit einem Glasstabe aufgerührt wird. Das Letztere hat deshalb zu geschehen, weil der in den oberen Schichten sich sammelnde Alkohol in die tieferen relativ langsam diffundirt.

Was nun die mit der beschriebenen Formolmischung erzielten Erfolge betrifft, so sind dieselben rücksichtlich der Kerne und Pyrenöide den durch die Chromessigsäure und den Chromsäure-Gemischen erzielten mindestens gleichwerthig zu halten.

Ebenso werden auch im Allgemeinen die Chromatophoren in der vorzüglichsten Weise fixirt. Nur in wenigen Fällen steht diesfalls das Formolgemisch den Chromsäuregemischen insoferne nach, als die Chromatophoren nach der Behandlung der Objecte mit ersterem rücksichtlich ihrer Umrisse und Ränder nicht immer ganz so scharf hervortreten, als nach der Fixirung mit letzteren.

Dies mag vielleicht seinen Grund darin haben, dass Formol viele Zellbestandtheile z. B. Eiweisse anders fällt, als die Chromsäure.

Das Zellprotoplasma scheint durch die Anwendung des concentrirten Formolgemisches eine leichte Quellung zu erleiden.

In Folge dessen tritt in vereinzelt Fällen bei manchen Desmidiaceen (*Cosmarium*, *Micrasterias*, *Euastrum*, *Staurastrum*) dann, wenn bei schwächeren Exemplaren die übereinandergreifenden Theile der Zellmembranhälften nicht genügenden Widerstand entgegen zu setzen vermögen, das quellende Plasma an dieser Stelle als Tröpfchen hervor.

Im Nachtheile ist ferner die Formolmischung gegenüber der Chromessigsäure in denjenigen Fällen, in welchen es gilt, gewisse Algenschleime und Gallerte zu lösen, welche manche Arten umhüllen und bei der Präparation, wenn es sich nicht um die Structur und die Anordnung dieser Gallerte selbst handelt, äusserst hinderlich sind.

Während Chromessigsäure dieselben z. B. bei *Batrachospermum*, *Draparnaldia*, den Jugendformen von *Chaetophora* löst, ist dieses bei dem Formol-Holzessig-Methylalkohol-Gemische nicht der Fall. Im Gegentheile bildet dasselbe vielmehr für Gallerte eines der vorzüglichsten Fixirungsmittel.

Andererseits zerfällt dagegen nach Chromessigsäurebehandlung auch bei sorgfältigster Ueberwachung der Dauer der Einwirkung der Hauptstamm von *Batrachospermum* in kleine Stückchen, was bei dem Formolgemische niemals vorkommen wird.

Ebenso sei bezüglich der Desmidiaceen im Besonderen bemerkt, dass dadurch gegenüber der Chromessigsäure bei denselben nicht allein die Gallerte als solche, sondern auch die Poren und sogenannten Porenorgane ausgezeichnet fixirt und erhalten werden, so dass derartige Material diese wichtigen Structurverhältnisse nach geeigneter Färbung gerade so zu studiren erlaubt, wie frisches.

Freilich erweist es sich dem frischen gegenüber deshalb im Nachtheil, weil die für diese Zwecke meist gebrauchten Farbstofflösungen, wie Methylviolett, Fuchsin etc., nicht wie bei lebenden Objecten vorerst nur die Gallerte, Poren und Porenorgane, sondern zugleich auch die übrigen abgetödteten Zellbestandtheile: Chromatophoren, Pyrenoïde und Kerne, sowie das übrige Plasma intensiv färben.

Uebrigens lassen sich Tinctionen mit den eben genannten Anilinfarben nicht dauernd conserviren oder gar in Harz einschliessen.

Sollen daher Dauerpräparate dieser Structuren hergestellt werden, so muss man zu anderen Farbstoffen greifen. Gute Resultate — mit Ausnahme der Darstellung der Poren bei den von Hüllgallerte freien Desmidiaceen — erhielt ich mit Kernschwarz und der später beschriebenen Eisencarminfärbung.

Ueber Kernschwarz und dessen Anwendungsweise habe ich anlässlich meiner Untersuchungen der Gallertverhältnisse bei *Thorea ramosissima* Bory die nöthigen Mittheilungen gemacht und verweise daher auf Jahrgang 1896 Nr. 9 dieser Zeitschrift.

Neuerdings habe ich in den Kreis dieser Versuche auch den von P. Mayer<sup>1)</sup> für thierische Schleime empfohlenen Mucicarmin

<sup>1)</sup> Ueber Schleimfärbung, Mittheilungen aus der Zoologischen Station Neapel, Band XII, 1896, pag. 303—330.

Mucicarmin wird auf folgende Weise bereitet: 1 gr. Carmin und 0.5 gr. Chloraluminium (trockenes, nicht schon feucht und daher gelb gewordenes) werden in einem Porzellanschälchen gut gemischt und mit 2 Cc. destillirtem Wasser übergossen. (Verfasser räth dringend, keine grösseren Mengen in Arbeit zu nehmen.) Das Schälchen wird dann über einer sehr kleinen Flamme unter fortgesetztem Umrühren so lange erhitzt, bis das anfänglich hellrothe Gemenge ganz dunkel geworden ist (etwa zwei Minuten). Ist die Mischung nun durch Verdampfen von Wasser zähflüssig geworden, so fügt man etwas Alkohol von 50 Procent hinzu, worin sich die heisse Masse leicht lösen muss, und spült sie mit mehr 50procentigem Alkohol in eine Flasche hinein. Man bringt die gesammte

und das Muchämäteïn einbezogen. Beide geben in gewissen Fällen gute Färbungen der Galleite und der sogenannten Porenorgane. Der Zellinhalt dagegen wird wenig oder gar nicht gefärbt. Da diese Versuche jedoch noch nicht zum Abschlusse gelangt sind, so kann derzeit auf dieselben nicht näher eingegangen werden.

Das mit Formol-Holzessig-Methylalkohol fixirte Algenmaterial hat im Allgemeinen an Tinctionsfähigkeit nichts eingebüßt. Färbungen mit den verschiedenen Carminen, Hämatoxylinen, Kernschwarz und den meisten Anilinfarben gelingen ohneweiters.

Ein Gleiches gilt von den meinerseits empfohlenen Eisenfärbungen, sei es mit oder ohne Magdalarothnachfärbung.<sup>1)</sup>

Nur bezüglich der Eisenchlorid-Echtgrün-Magdal. Magdalarothfärbung ist zu bemerken, dass dieselbe bei dem mit der Formolmischung fixirten Material weniger gute Tinctionen gibt, als Chromessigsäure-Material. In diesem Falle scheint thatsächlich die Chromsäure als Beize zu wirken.

Dagegen hat sich gerade bei dem mit Formol-Holzessig-Methylalkohol fixirten Material eine modificirte Eisenfärbung so vorzüglich bewährt, dass sie hier ausführliche Darstellung finden soll. Sie lässt sich natürlich auch bei anders fixirtem Material anwenden.

Ich bezeichne dieselbe kurz als Eisencarminfärbung.

Die hiezu nöthigen Lösungen sind folgende:

I. Eine sehr schwache Lösung von neutralem, chemischreinem Eisenchlorid in 50procentigem Alkohol. Dieselbe wird einfach dadurch bereit, dass man 100 Cc. 50procentigem Alkohol 1—3 Cc. einer concentrirten Eisenchloridlösung in 95procentigem oder absolutem Alkohol zusetzt.

II. Eine concentrirte Lösung reiner Carminsäure (bezogen von Dr. G. Grübler u. Co.) in 50procentigem Alkohol.

Zum Zwecke des Färbens müssen die Objecte bereits in wenigstens 50procentigem Alkohol liegen und durch diesen sowohl vom Formol, als auch von ihren Farbstoffen befreit sein.

Sie werden dann direct in eine nicht zu geringe Menge der Lösung I., welche unter Umständen auch noch mit 50procentigem Alkohol verdünnt werden kann, übertragen, in welcher sie mindestens

---

Lösung durch Zusatz von 50procentigem Alkohol auf 100 Cc. und filtrirt sie frühestens nach 24 Stunden. Diese alkoholische Lösung, welche unbegrenzt haltbar zu sein scheint, wird beim Gebrauch mit der 10fachen Menge guten kalkreichen Brunnenwassers verdünnt. (Ich bekam dabei fast immer Ausfällungen und ziehe es daher vor, mit 30—50procentigem Alkohol zu verdünnen).

Die fertige concentrirte Lösung kann ebenso, wie Mucicarmin sicc. von Dr. G. Grübler u. Co., Leipzig, Bayerische Strasse 63 bezogen werden.

Die spirituöse Lösung des Muchämäteïns (welche hier allein verwendet wurde) besteht aus 0.2 gr. Hämateïn, 0.1 gr. Chloraluminium, 100 Cc. 70procentigem Alkohol und 1 bis 2 Tropfen Salpetersäure. Die Lösung wird mehr oder minder mit reinem Alkohol verdünnt. Dieselbe ist gleichfalls bei Dr. G. Grübler & Co. erhältlich.

<sup>1)</sup> Zur Präparation der Süßwasseralgen, Pringsheim's Jahrbücher für wissensch. Botanik, Band XXVI, pag. 686 u. f.

6—12 Stunden zu verweilen haben, worauf man decantirt und das überschüssige Eisenchlorid durch öfters erneuerten, 50procentigen Alkohol auszieht.

Ist dies im genügenden Maasse geschehen, was bald die Erfahrung lehrt, so werden dem 50procentigen Alkohol, in welchem das Material liegt einige Tropfen der Lösung II. beigefügt. Ein Zuviel kommt dabei nicht in Betracht, weil nur so viel Carmin gebunden wird, als Eisen da ist, bezw. der Farbstoff nur an den vom Eisen gebeizten Stellen festgehalten wird.

Nach einigen Stunden ist die Färbung, welche mehr oder minder schwarz auszufallen pflegt, vollendet. Es wird die Carminsäure abgegossen und zuerst mit 50procentigem Alkohol oder gleich mit der schon erwähnten 10procentigen Glycerinmischung ausgewaschen.

In der letzteren schlägt die Farbe in tieferes Schwarz um.

Dann werden die Objecte behufs neuerlicher Uebertragung in 95procentigen Alkohol am besten durch die Glycerinmethode (Schwefelsäure-Exsiccator) in denselben übergeführt und nach bekanntem Verfahren<sup>1)</sup> in venetianischen Terpentin oder ein anderes Harz eingeschlossen.

Ist die Eisencarminfärbung zu stark geworden, was bei einiger Uebung und Vorsicht selten der Fall sein wird, so kann, wenn die Objecte bereits in 95procentigem Alkohol liegen, wie überhaupt bei Eisenfärbungen, mit 0·1—0·5procentigem Salzsäure-Alkohol differenzirt werden. Dabei ist natürlich Vorsicht nöthig und muss nach gehöriger Einwirkung die Säure völlig mit neutralem Alkohol entfernt werden.

Die Färbung kann, gleich den übrigen Eisenfärbungen, mit einer Magdalaroth-Nachfärbung combinirt werden. Wie, möge in meiner Arbeit nachgelesen werden.<sup>2)</sup>

Ebenso erlaubt sie eine Combination mit Mucicarmin.

Wenn die Eisencarminfärbung auch einigermassen zeitraubend ist, weil sie eine nochmalige Uebertragung der Objecte in 95procentigen Alkohol erfordert, so gibt sie doch Bilder, welche an Klarheit und Schönheit kaum übertroffen werden dürften.

So bekam ich, um nur ein Beispiel anzuführen, bei den schwer distinct färbbaren Spirotaenien (*Sp. trabeculata* A. Braun, die schönsten Färbungen.

Allerdings sind der Farbe nach die Bilder einförmiger, weil, wenn keine Magdalaroth-Nachfärbung hinzutritt, Kerne, Pyrenöide, Chromatophoren etc. lediglich in verschiedenem Grau, resp. Schwarz abgetönt sind. Anders steht es nur mit der Gallerte, welche sich oft in Nuancen zwischen Gelbbraun und Schwarz färbt.

Die Farbe dürfte, soweit es sich heute beurtheilen lässt, besonders bei Harzeinschluss zu den dauerhaftesten zählen. Uebrigens scheint sie auch in Glycerin-Gelatine längere Zeit haltbar zu sein.

<sup>1)</sup> l. c. pag. 695 u. f.

<sup>2)</sup> l. c. pag. 691 u. f.

Die vorstehend beschriebenen Fixirungs-, Conservirungs- und Färbemethoden fanden sowohl bei den Rhodophyceen, Phaeophyceen, Chlorophyceen, Diatomaceen, als auch bei den Cyanophyceen Verwendung.

Rücksichtlich dieser letzteren, welche sich mit den sonst trefflichen Chromsäuregemischen nur schlecht fixiren liessen, gab die Fixirung mit Formol-Holzessig-Methylalkohol und die Färbung mit Eisencarmin bei Einschluss in venetianischen Terpentin gleichfalls schöne, distincte Bilder. So gelang damit beispielsweise die Fixirung von *Oscillatoria princeps* Vauch. ausgezeichnet und konnte der Wabenbau derselben, wie die Controle am lebenden Material ergab, in unveränderter und deutlicher Weise zur Darstellung gebracht werden.

Ob aber die fraglichen Methoden für die endliche Ergründung des Cyanophyceen-Zellinhaltes von Werth sein werden, mag natürlich dahin gestellt bleiben.

Bei dem heissen Streite, welcher unter den Forschern über das Vorhanden- oder Nichtvorhandensein einzelner Inhaltskörper des Cyanophyceen-Protoplastes herrscht, und noch lange nicht zum Abschlusse gelangt ist, muss es für allgemeinere Zwecke vorläufig genügen, wenn überhaupt Methoden vorhanden sind, welche die Conservirung solcher Structuren gestatten, die an der lebenden Zelle notorisch sichtbar sind.

Was endlich den Einschluss der nach dem Vorstehenden fixirten, conservirten und gefärbten Algenobjecte in venetianischen Terpentin oder ein anderes Harz betrifft, so habe ich den Angaben, welche ich darüber seinerzeit machte,<sup>1)</sup> nichts beizufügen.

---

## Bemerkungen über einige orientalische Pflanzenarten.

Von Dr. A. v. Degen (Budapest).

### XXXIII.

#### Ueber die systematische Stellung des *Alyssum Dörfleri* m.

Gelegentlich Veröffentlichung der Diagnose des von Herrn J. Dörfler im Jahre 1893 auf dem Berg Kossov bei Zbsorsko in Centralmacedonien entdeckten neuen *Alyssums* (Degen und Dörfler Beitr. zur Flora Albaniens und Macedoniens 1897 p. 8) erkannte Herr J. Bornmüller in dem auf Tafel II, Fig. 5, unserer Arbeit dargestellten *Alyssum Dörfleri* m. eine dem *Alyssum Bornmülleri* Hausskn. nahe verwandte Art, und theilte uns in liebenswürdiger Weise seine Bedenken mit, dass unsere bisher nur in Blüte

---

<sup>1)</sup> l. c. pag. 695 u. f.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichische Botanische Zeitschrift = Plant Systematics and Evolution](#)

Jahr/Year: 1898

Band/Volume: [048](#)

Autor(en)/Author(s): Pfeiffer R. v. Wellheim Ferdinand

Artikel/Article: [Beiträge zur Fixirung und Präparation der Süßwasseralgen. 99-105](#)