

Einige Ratschläge zur Herstellung mikroskopischer Insektenpräparate

Gerfried Deschka, Resselstraße 18, 4400 Steyr, O.Ö.

Je mehr die entomologische Forschung das Mikroskop verwendet, desto mehr gewinnt die Anfertigung von tadellosen Präparaten Bedeutung. Die Morphologie und Anatomie der Insekten genitalien haben seit der Jahrhundertwende solche Bedeutung erlangt, daß man sich die moderne Entomologie ohne diese Hilfen nicht mehr vorstellen kann. Aber nicht nur die Genitalpräparation sondern alle Teile des Insektenkörpers werden mit dem Mikroskop erforscht. Besonders hervorgehoben seien hier die Kenntnis der Eier, die Chaetotaxie der Larven, die Morphologie der Puppe, ja die Verwendung aller Chitinstrukturen der Cuticula eines Insekts als taxonomische Kriterien. Die moderne Entomologie ist ohne Mikroskope nicht mehr vorstellbar.

Der Amateurentomologe verwendet vor allem das Stereomikroskop (fälschlich auch Binokular) und das Durchlichtmikroskop. Präparationsmikroskope mit Umkehrprismen werden zugunsten der Stereomikroskope immer weniger gebraucht, obwohl sie bei der reinen Durchlichtarbeit Vorteile bei der Durchleuchtung des Objektes aufweisen, die beim Stereomikroskop wegen des ihm eigenen Strahlenganges nicht erreicht werden.

Stereomikroskope werden sowohl mit zwei zusammengebauten Objektiven (Greenough) als auch mit einem Objektiv (Zeiss, Abbe) erzeugt. Das Greenough-System verfügt über zwei völlig unabhängige Strahlengänge; Im Zeiss-Abbe-System dringt ein Strahlenbündel durch das Objektiv und wird dann mit Hilfe von Prismen zu den zwei Okularen verzweigt. Beide Systeme erzeugen einen guten stereoskopischen Effekt, obwohl das Greenough-System in der Raumwirkung dem monobjektiven System noch überlegen scheint. Wird ein schneller oder gar lückenloser Vergrößerungswechsel gewünscht, so stehen Geräte mit Zoom-System zur Verfügung. Im allgemeinen kommt der Entomologe bei der Arbeit mit dem Stereomikroskop mit dem Auflicht aus. Kleinere Präparate jedoch verlangen DL-Betrachtung, wobei die Schwierigkeit weniger in der Vergrößerung als in der Beleuchtung liegt. Der bei fast allen Geräten verwendeten DL-Beleuchtung mit einer Lichtquelle (direkt eingebauter Lampenträger oder über einen Spiegel) muß vor dem Objektiv ein Milchglas- (Mattglas-) filter vorgesetzt werden; dieser Filter schluckt jedoch so viel Licht oder lenkt es ab, daß die üblichen 15 W-Lampen für größere Vergrößerungen wenig geeignet erscheinen. Die meines Wissens nur von einer Firma (Zeiss) gebaute DL-Beleuchtungseinrichtung mit geregelter Strahlenführung bei der im Fuß des Mikroskopes zwei zentrierbare NV-Leuchten (zu je 15 W) angebracht sind; daher wird das Objekt in der direkten Fortsetzung der optischen Achse jedes Strahlenganges ein kräftiges Lichtbündel geworfen und somit auch bei starken Vergrößerungen ausreichend beleuchtet. Die stereoskopischen Lichtmikroskope vergrößern bis etwa 200x, wobei der Entomologe gerade das Auslangen findet. Präparatorische

Arbeiten (z.B. sogar komplizierte Genitalpräparationen) unter 160-facher Vergrößerung können bei gewissen Insektengruppen die Regel sein. Fast alle präparatorischen Arbeiten werden unter dem Stereomikroskop ausgeführt.

Der Amateurentomologe beschränkt sich vor allem auf die Betrachtung der Cuticula; daher wird mit dem klassischen Mikroskop mit Vergrößerungen von etwa 800x leicht ausgekommen. Im allgemeinen reicht ein monokulares Gerät, für stundenlange Betrachtung ist es jedoch nicht geeignet und würde dem Betrachter schaden. Die seit Jahrzehnten gebräuchlichen Geräte eignen sich hervorragend für entomologische Zwecke, auch billigere oder ältere Mikroskope sind meist für alle Arbeiten geeignet. Die einzige Schwierigkeit liegt in der Ausleuchtung großer Objekte. Die Kondensoren der klassischen Mikroskope sind gerade für das Gegenteil - für die Ausleuchtung kleinster Felder - konstruiert. Daher müssen entweder eigene Kondensoren oder abnehmbare oder schwenkbare Frontlinsen (oder Systeme) verwendet werden. Große Firmen bieten so viele Zusatzgeräte und Ausstattungen an, daß jeder Wunsch erfüllt werden kann. Große, teure Geräte sind nach dem Baukastenprinzip konstruiert, nach dem jeder Teil durch einen anderen ersetzt werden kann.

Recht unbefriedigend scheinen mir die Zeichenapparate zu sein. Alle bis jetzt konstruierten Geräte sind auf dem Prinzip der monokularen Betrachtung gebaut und strengen die Augen des Zeichners derart an, daß Schädigungen bei oftmaligem und langem Zeichnen meiner Ansicht nach unvermeidbar sind. Nur eine Firma (Wild) bietet zu ihren Stereomikroskopen einen Tubus mit einem Spiegel, welcher die Zeichenunterlage in den Strahlengang so einspiegelt, daß ein Zeichnen bei stereoskopischer Betrachtung (durch zwei Okulare) möglich ist; eine Erleichterung, die nicht hoch genug eingeschätzt werden kann. Leider stehen für das klassische Mikroskop meines Wissens noch keine solchen Möglichkeiten zur Verfügung.

Dem Zeichnen mit den Zeichenapparaten wird oft das Zeichnen mit Projektionsaufsätzen oder eigenen Projektionsmikroskopen vorgezogen. Auch die Mikrophotographie bietet Wege, die geeignet sind, die Zeichenapparate wenigstens behelfsweise zu ersetzen. Weniger geeignet scheint mir die Methode mit dem Okularmikrometer und dem Raster zu sein, da sie sowohl zeitraubend ist als auch ein beträchtliches Zeichentalent vom Entomologen verlangt.

Da die Genitalpräparation für den Entomologen meist den Hauptteil seiner mikroskopischen Arbeit darstellt, wird auch im folgenden besonders darauf eingegangen.

Welche Anforderungen werden nun an ein Dauerpräparat gestellt?

Betrachtungsmöglichkeit im DL und AL (zumindest behelfsweise),

Färbung,

Betrachtungsmöglichkeit mit starken Systemen (Trockensystemen und Immersionen) von beiden Seiten (von vielen Entomologen und Instituten vernachlässigt),

das Objekt darf nicht gequetscht oder breitgedrückt

werden, die natürlichen Formen und Proportionen der kutikulären Strukturen müssen möglichst erhalten bleiben.

Es ist nicht leicht, alle diese Anforderungen zu erfüllen. Viele, auch moderne, Methoden vernachlässigen eines der oben genannten Prinzipien und scheiden als brauchbare Präparationsmethoden von vornherein aus. Riesiges Material wurde durch schlechte mikroskopische Präparate entwertet und noch immer stellen viele Entomologen Präparate her, die Mindestanforderungen nicht entsprechen. Leider wird jeder Entomologe viel Lehr-geld zahlen müssen und manches verpfuschen, bis er fähig ist, ordentlich zu präparieren. Aber schließlich braucht jede komplizierte Technik ihre Lehrzeit. Nach Meinung vieler Entomologen wird ein Insekt durch die Anfertigung von Präparaten verstümmelt und damit entwertet. Freilich muß ein Körperteil vom Insekt abgetrennt werden, um dann mikroskopisch untersucht und als Dauerpräparat konserviert zu werden. Durch den Vorteil einer mikroskopischen Betrachtungsmöglichkeit werden die Nachteile von fehlenden Insektenteilen wieder reichlich kompensiert; bei Genitalien ist ja von vornherein eine Betrachtung ohne mikroskopische Präparation nicht möglich, so daß durch die Abtrennung kein Nachteil am Insekt entsteht (ausgenommen so kleine Insekten, bei denen eine Abtrennung des Genitales nicht möglich ist, sondern der ganze Hinterleib abgenommen werden muß). Trotz der genannten Nachteile bin ich der Ansicht, daß eine Sammlung durch die Anfertigung von Präparaten eher gewinnt als verliert und daß sich der Wert von Insekten durch die Präparate bedeutend erhöht.

Im folgenden seien einige Winke zur Herstellung von einwandfreien Dauerpräparaten angeführt. Ich weiß genau, daß ich damit nur eine Methode herausgreife und daß es viele Wege zu saubereren Präparaten gibt. Schließlich hat jeder seine individuelle Art, und es gibt wahrscheinlich so viele Wege wie Präparatoren.

Nach dem zumindest bei großen Lepidopteren notwendigen Entschuppen (ev. mit Eau de Javelle) und nach dem Mazerieren in Kali- oder Natronlauge wird das Präparat in Wasser gewaschen. Wenn man auf besonders elastische Körperteile Wert legt, so kann man dem Wasser Spuren von Zitronensäure beisetzen. Das Objekt wird auf einen gewöhnlichen Objektträger gesetzt und von nun an unter dem Stereomikroskop präpariert. Ob man zur weiteren Behandlung DL oder AL benützt, hängt vom Objekt ab. Ist die Mazerierung nicht zufriedenstellend, beginnt man von vorne. Sollten sich noch Schuppen auf den Teilen befinden, so versucht man, diese unter konzentrierter Essigsäure abzuputzen. Zu etwaigen Präparationsarbeiten wäscht man wieder in Aqua dest. unter Zusatz von etwas Zitronensäure. Zu besonders schwierigen Arbeiten wie z. B. dem Breiten von sehr kleinen männlichen Genitalien, saugt man vom Rand her das Wasser etwas ab, so daß nur das Genitale gut im Wasser liegt und nicht schwimmt. Dabei werden gebreitete Teile durch die Kapillarität an den Objektträger gepreßt und können nicht mehr in ihre ursprüngliche Lage zurück. In dieser Phase können auch Teile des Genitales herausgeschnitten werden. Sofort nach Beendigung der Präparation,

welche viel Gefühl und Genauigkeit erfordert, muß das Präparat bedeckt werden, da ja sonst bewegliche Teile infolge ihrer Elastizität nach Verdunsten der winzigen Wassermenge wieder in ihre ursprüngliche Lage zurückkehren. Würde man nun auf das Objekt ein großes Deckglas legen, so würden alle dickeren Teile durch die Adhäsion zerdrückt werden und ihre Form verlieren. Deswegen verwende ich nur erhöhte Deckgläser, die ich folgendermaßen herstelle. Ich verwende während der Präparation meist Deckgläser 18 x 18, nur für große Objekte 20 x 20. In die vier Winkel des Glases werden vier Tropfen eines im endgültigen Einbettungsmittel nicht löslichen Lackes oder Kunstharzes gebracht, wobei ich eine Reihe verschiedener "Größen" anfertige; je nachdem ob es sich um dicke oder weniger dicke Objekte handelt, werden größere oder kleinere Tröpfchen aufgetragen. Der Lack oder das Kunstharz werden dann getrocknet (ev. über einer Spiritusflamme). Das Deckglas wird dann - mit dem erhärteten Lacktröpfchen nach unten - auf das Objekt gesetzt. Vorsichtshalber kann vorher auf die Objektseite des Deckglases ein Wassertröpfchen gesetzt werden, um ein Ankleben oder eine Verletzung des Objektes an der trockenen Glasfläche zu vermeiden. Das Objekt liegt nun zwischen der starren Objektträgerfläche und der elastischen, nur wenig Druck auf das Objekt ausübenden Fläche des Deckglases in H_2O eingebettet. Da die mechanische Präparation beendet ist, braucht man nicht mehr mit irgendwelchen Bestecken am Objekt hantieren; das Objekt braucht also bis zur Montage nicht mehr herausgenommen werden, da die weitere Behandlung vom Rande des erhöhten Deckglases her vorgenommen werden kann. Ist eine Färbung nötig, so verfähre ich folgendermaßen. Da viele Farbstofflösungen stark säureempfindlich sind, bereite ich das Objekt auf die Färbung vor, das heißt, ich wasche nicht nur in H_2O , sondern setze eine sehr schwache Alkohollösung vom Rande des Deckglases her zu und sauge am entgegengesetzten Ende mit einem saugenden Stoff (Zellstoff, Flanell oder Ähnlichen) die Flüssigkeit wieder ab. So wird das Objekt von einem Flüssigkeitsstrom umwallt (meist mit einem idealen stufenlosen Konzentrationsgefälle). Durch die schwache alkoholische Lösung werden auch die eventuell noch verbleibenden Säurereste neutralisiert und das Objekt auf den Farbstoff vorbereitet. Als Einfachfärbung eignen sich viele Farbstoffe. Zur Mehrfachfärbung kommen die Pikrofuchsin-Lösung nach van Gieson und die Orange G-Lösung (Papanicolaou's Lösung 2, OG 6), wobei die OG 6 eine etwaige Überfärbung von Pikrofuchsin mildert, während gleichzeitig der gelbe Farbstoff der OG 6 in die feinsten Strukturen eingelagert wird. Außerdem scheinen mir diese beiden Farbstoffe bei gelungenen Präparaten die feinsten Abstufungen der Cuticula-Stärken und die kleinsten Strukturen besonders schön sichtbar zu machen. Während die Farbstofflösung vom Rande des Deckglases zugesetzt und am entgegengesetzten Rand wieder abgesaugt wird, kann man mit einer feinen Nadel vorsichtig auf das federnde Deckglas drücken und wieder nachlassen, so, daß immer wieder Farbstoff aus dem Objekt gedrückt bzw. in das Objekt "gepumpt" wird. So werden auch die feinsten Chitinstrukturen von der hervorragend diffundierenden Lösung schön durchdrungen. Wer es beim Färben eilig hat, kann mit 10 ml

einer etwa 2%igen wässerigen Rubin-S-Lösung, zu der 10 ml 96%iger Alkohol zugesetzt werden, rascher färben (oder überfärben) und dann mit der OG 6 nachfärben. Nach dem Färben folgt eine Alkoholreihe, wobei die Erstgabe ungefähr der Konzentration der letzten Farbstofflösung entsprechen soll. Als Endglied wählt man 100%igen Alkohol, damit das Objekt vollständig erhärtet. Dann folgt das Lösungsmittel des Einbettungsmittels (Nelkenöl, Methylbenzoat, Xylol usf.), wobei das Deckglas zur Entnahme des Objektes vorsichtig gehoben werden muß. Das Präparat wird nun vorsichtig auf ein entsprechend kleines Deckglas gesetzt (es stehen serienmäßig folgende Größen zur Verfügung 8 x 8, 10 x 10, 12 x 12, 15 x 15, 18 x 18, 20 x 20), wobei dieses Deckglas nun als Objektträger dient. Um ein zu starkes Drücken des Objektes durch die Adhäsion zu vermeiden, wird das nun zu verwendende kleinere tatsächliche Deckglas ebenso behandelt wie das bei der Färbung usf. verwendete. Dadurch entsteht ein Präparat, welches nicht gequetscht - also verzerrt und flächenmäßig wirkt - sondern räumlich und einigermaßen natürlich proportioniert. Bei der Betrachtung dieser Präparate im Stereomikroskop ergibt sich also eine hervorragende stereoskopische Wirkung, im klassischen Mikroskop kann man von beiden Seiten mit starken Trockensystemen und Immersionen an das Objekt heran, da kein dicker Objektträger die Betrachtung hindert. Schließlich können die Beborstung der Oberseite von jener der Rückseite besser unterschieden werden als bei zerdrückten Objekten (Valven usf.). Das Dauerpräparat wird mit einigen Nitrolacktröpfchen auf einen gelochten Karton so montiert, daß der Karton kaum vorsteht und das Objekt in das Zentrum des Loches gelangt. Auf einer Seite kann der Karton nun unter dem dazugehörigen Insekt genadelt werden oder auf einer eigenen Nadel entweder waagrecht oder über eine besondere Vorrichtung auch senkrecht angebracht werden, wobei jedoch eine entsprechende Etikette die Daten trägt. Recht günstig scheint mir eine Angabe des Einbettungsmittels auf der Etikette zu sein, da in neuerer Zeit oft andere Harze als Kanadabalsam verwendet werden.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Steyrer Entomologengerunde](#)

Jahr/Year: 1968

Band/Volume: [0010](#)

Autor(en)/Author(s): Deschka Gerfried

Artikel/Article: [Einige Ratschläge zur Herstellung mikroskopischer Insekten Präparate 63-67](#)