

Über die Anfertigung mikroskopischer Präparate kleiner Insekten.

Von Carl Börner, Naumburg (Saale).

Im Anzeiger für Schädlingskunde hat W. Roepke im Jahre 1928¹⁾ eine wichtige Neuerung für die Herstellung mikroskopischer Präparate von Blattläusen und anderen kleinen Insekten mitgeteilt. Sie besteht darin, daß die in Alkohol oder Spiritus unter leichtem Erhitzen konservierten und dann in Milchsäure überüberführten Tiere in einem Chloralhydrat-Phenol-Gemisch über dem Wasserbade mazeriert und dann im Berlese-Gemisch eingeschlossen werden. Roepke gibt auch einige Hinweise für die Mazeration von älterem Alkoholmaterial und von getrockneten Insekten, wozu er zusätzlich die Benutzung von Kalilauge empfiehlt.

Ich selbst bin einen anderen Weg der Präparation gegangen. Meine Beschäftigung mit den durch starke Wachsausscheidungen ausgezeichneten Tannenläusen und den Blutläusen hatte mich schon um 1906 veranlaßt, die Tiere durch wachs- und fettlösende Mittel für die Mazeration in Kalilauge vorzubereiten, weil die Lauge das Wachs und Fett der Blattläuse nur unvollständig verseift, so daß die Präparate leicht verschmieren. Anfangs verwendete ich Aether, später Tetrachloraethan als Lösungsmittel²⁾ und ersetzte letzteres schließlich durch Tetrachlorkohlenstoff. Dieser läßt sich mit Alkohol (oder den. Spir. 99-96% im Verhältnis 1:1 gut mischen und in der Mischung gegen Alkohol (oder Spiritus) 78-80%, der üblichen Konzentration für Sammlungsmaterial, ohne Trübung auswechseln. Da nicht entfettete Blattläuse, wie auch viele andere Kerfe, in Spiritus sehr bald unansehnlich werden, so daß es unmöglich ist, die Chitinstrukturen an ihnen zu studieren, nehme ich die Entfettung mit dem Tetrachlorkohlenstoff-Gemisch seit langem bereits unmittelbar nach der Konservierung vor.

Das frische Material koche ich in Spiritus 78% leicht an, gieße den Spiritus vorsichtig ab, fülle mit dem Gemisch wieder auf und schließe das Röhrchen mit einem Korken. Da das Gemisch spezifisch schwer ist, schwimmen die Tiere zunächst an der Oberfläche, sinken aber mit Beginn der Entfettung zu Boden. Nach 1-2 oder mehr Tagen (je nach Größe und Menge der Tiere) ist die Entfettung beendet, man kann sie durch Erhitzen auch beschleunigen; das Gemisch ist nicht explosiv und läßt sich über der Sparflamme vorsichtig kochen. Jetzt sauge ich etwas Flüssigkeit ab, gebe Spiritus 78% zu, mische und gieße vorsich-

1) Anzeiger für Schädlingskunde, 1928, IV. Jahrgang., Heft 12, S. 160/1.

2) Vgl. Janisch, R., Lebensweise und Systematik der „Schwarzen Blattläuse“. Arb. a. d. BRA, XIV, 1926, H. 3 (S. 297 ff).

tig ab; später spüle ich mit Spiritus 78⁰/₀ noch 1-2 mal durch und fülle damit zum Schluß wieder auf. Das Alkoholmaterial gewinnt durch diese Behandlung ein sehr sauberes Aussehen und behält dieses auch, die Chitinstrukturen treten in voller Klarheit zutage und sind auch ohne mikroskopische Präparation deutlich zu erkennen und sicher zu untersuchen, während Roepke's Verfahren dies erst im mikroskopischen Präparate gestattet.

Frisch konserviertes und entfettetes Blattlausmaterial läßt sich sofort über Milchsäure in Berlese überführen. Die Milchsäure hellt die Weichteile fast vollständig auf, so daß sie im Präparat nicht mehr störend wirken. Man kann die Tiere auch für längere Zeit in der Milchsäure belassen und darin untersuchen, was sich besonders beim Studium kleinster Haarbildungen empfiehlt. Es ist nicht erforderlich, vorher in Kalilauge zu mazerieren. Ebenso wenig bedarf es der Mazeration im Choralhydrat-Phenol-Gemisch nach Roepke. Man kann brauchbare mikroskopische Präparate im Schnellverfahren schon wenige Stunden nach der Konservierung herstellen, was bei Verwendung von Kalilauge ohne gleichzeitige Entfettung bekanntlich erst nach Ablauf von einigen Wochen gelingt.

Ist das zu präparierende Alkoholmaterial bereits $\frac{1}{2}$ Jahr alt oder älter, so genügt die Behandlung mit Milchsäure nicht immer, um alle Weichteile genügend aufzuhellen. Vor allem ist die Muskulatur in dieser Zeit so gehärtet und oft auch gebräunt, daß sie der Mazeration durch Milchsäure lange widersteht. Sie muß dann samt dem übrigen Eingeweide durch vorsichtige Präparation entfernt werden. Diese bereitet unter dem Binocular zwar keine besonderen Schwierigkeiten, erfordert jedoch eine gewisse Geschicklichkeit und nimmt vor allem viel Zeit in Anspruch, ohne daß die Präparate schließlich voll befriedigen. Es bedeutete daher die Einführung des Roepke-Verfahrens einen beachtlichen Fortschritt; er wird nach meiner Erfahrung nur dadurch etwas beeinträchtigt, daß einerseits manche Feinheiten der Chitinbekleidung und der Behaarung verloren gehen können, andererseits das Choralhydrat-Phenol-Gemisch sehr unangenehm riecht und auf der Haut und an der Kleidung stark ätzend wirkt. Ich habe deshalb das Roepke-Verfahren nur dann angewendet, wenn ich auf andere Weise nicht zum Ziel gelangen konnte.

Neuerdings habe ich nun die Kombination von Entfettung und Mazeration in Kalilauge als Ersatz für das Roepke-Verfahren ausgebaut. Die Entfettung erleichtert die Mazeration der Eingeweide in Kalilauge wesentlich. Vor allem verhindert sie die Ausflockung nichtverseifeter Fettreste. Für die Benutzung der Kalilauge ist folgendes zu bedenken. Um zu vermeiden, daß die Lauge die Chitinstrukturen angreift, ist es sonst üblich, 5-10⁰/₀ige Lösungen in aqu. dest. zu verwenden. Erhitzt

man diese über offener Flamme, so treten leicht Störungen durch Siedevorzug oder Schaumbildung ein. Man kann das durch Benutzung des Wasserbades oder Zugabe von 1-2 Tropfen Alkohol verhindern. Da aber die Schaumbildung in stärkerer Kalilauge (etwa 30%) nur gering ist, verwende ich letztere zur Mazeration. Erhitzt man nur zu Beginn bis zum Freiwerden der ersten Blasen, so bleiben auch die feinsten Chitinstrukturen unverändert. Nach einer Einwirkungszeit von 10-30 Minuten (bei älterem Material später) sauge ich nunmehr die Lauge ab und gebe destilliertes Wasser nach. Die Tiere quellen jetzt rasch auf, der Leibesinhalt wird aufgehellt und läßt sich durch vorsichtigen Druck mit der Präpariernadel oder anderem Gerät, nötigenfalls unter Anstechen der Bauchseite des Hinterleibes, ohne Mühe vollständig entfernen. Die ausgelaugten Tiere werden nunmehr über Milchsäure allmählich in das Berlese-Gemisch überführt und in diesem fertig eingebettet.

Der ganze Arbeitsvorgang ist einfach in der Ausführung, erfordert aber eine gewisse Erfahrung. Ich schildere deshalb nach einer Zusammenstellung des Arbeitsgerätes anschließend noch die einzelnen Teilvorgänge der Präparation.

Ich setze voraus, daß ein kleines Laboratorium zur Verfügung steht oder ein solches durch ein vollzähliges Koffergerät ersetzt werden kann. Wie Mikroskop und binoculare oder monoculare Präparierlupe sollen im Laboratorium Wasser- und Gasleitung vorhanden sein; unterwegs muß man sich mit Wasserflasche oder Wassereimer und Spiritus- oder Kerzenflamme behelfen. Der Bunsenbrenner soll mit Sparflamme ausgestattet sein. Die Chemikalien halte man sich in Literflaschen vorrätig und stelle sie sich in Erlenmeyerkolben von 100 ccm mit Kork- oder Gummiverschluß, die Milchsäure und das Berlese-Gemisch in noch kleineren Gefäßen, auf dem Arbeitstisch bereit. Gebraucht werden: destilliertes Wasser, Spiritus 78%, Spiritus-Tetrachlorkohlenstoff-Mischung 1:1, Kalilauge 30%, Milchsäure (25° Bé auf $\frac{1}{2}$ verdünnt), Berlese-Gemisch nach Vorschrift (12 g weißes Gummi arabicum, 20 ccm Aqua dest., 13 ccm Glycerin konz., 20 g Chloralhydrat, durch Glaswolle filtriert). Feine Präpariernadeln stellt man sich selbst unter Verwendung von Insektenstahlnadeln Nr. 1 (im Bedarfsfalle auch anderer Nummern) her. Feine Haarpinsel (Nr. 1) an Holzstiel sind überall käuflich. An Pinzetten werden eine feine spitze zu etwa 10 cm und eine kräftigere stumpfe zu etwa 14-15 cm Länge benötigt. Die Pipetten müssen weitröhrig sein. Zum Abstellen der Sammelgläser, die zugleich als Kochgläser dienen, benutze ich ein selbstgefertigtes Holzgestell, das für 12 Gläschen eingerichtet ist: 1 Bodenbrett von 18 x $7\frac{1}{2}$ x 2 cm Größe wird mit 12 Vertiefungen zur Aufnahme der Gläschen in 2 Reihen versehen,

über diesem Brett wird mit 2 dünnen Stirnbrettchen $7\frac{1}{2} \times 7\frac{1}{2}$ cm (Sperrholz) ein oberes dünnes Brett (ebenfalls Sperrholz) mit 12 zu den Bodenvertiefungen passenden Löchern befestigt. Die Sammelgläser sollen eine Länge von 9 cm und eine lichte Weite von 18 mm sowie runden Boden und geraden Oeffnungsrand haben; sie werden beim Einsammeln des lebenden Materials mit Watte, bei Spiritusfüllung mit Kork verschlossen; sie eignen sich wegen ihrer handlichen Form auch zum Kochen besser als die längeren Reagenzgläser. Aus den Sammelgläsern überführe ich die Tiere in kleinere Materialröhrchen, von denen ich 4 Größen (Länge 25-27, 35, 40 und 50 mm, lichte Weite 7, 9, 10 und 12 mm) — sämtlich mit rundem Boden — vorrätig halte. Sind große Mengen kleinerer Tiere oder einzelne größere Tiere aufzubewahren, so benutze ich die beschriebenen Sammelgläser als Materialröhrchen. Zum Verschuß der Röhrchen verwende ich Watte, die ich fest zu kleinen Bällchen drehe und mit der Pinzette so tief eindrücke, daß sie nicht mehr über den Rand des Röhrchens hinausragen. Die Röhrchen sammle ich in größeren weithalsigen Gläsern mit Kork- oder Glasverschluß und ordne sie nach systematischen oder anderen Gesichtspunkten. Müssen sie während der Arbeit abgestellt werden, so benutze ich hierzu Kork- oder Holzplatten mit eingebohrten Vertiefungen. Ich sichte das konservierte Material in Urgläsern von 4 oder 8 cm Durchmesser über einer Schwarzweiß-Platte; diese stelle ich mir mit Hilfe von schwarzem und weißem Glanzpapier her, das ich entweder in 2 Glasplatten 13×18 cm einschließe oder — für die Reise — auf Pappe aufklebe. Ueber Objektträger, Deckgläschen und Etiketten ist nichts besonderes zu sagen.

Der Arbeitsgang verläuft nunmehr in folgender Weise. Nehmen wir an, daß es sich um 6-12 verschiedene Präparationen handelt. Ich stelle zunächst die benötigte Zahl Kochgläser in das Holzgestell und gebe in jedes Glas etwa 2ccm Kalilauge. Dann stelle ich die ausgesuchten Materialröhrchen auf der Korkplatte auf und schreibe die Etiketten vor, indem ich sie zugleich durch Ziffern kennzeichne. Jetzt bringe ich das Material röhrchenweise in ein großes Urglas und suche mir die für die Präparation bestgeeigneten Tiere aus, die ich mit Pipette oder Pinzette in das Kochglas gleicher Ziffer überführe. Alsdann erhitze ich die Lauge bis zum Beginn der Blasenbildung und stelle die Röhrchen in der festgelegten Reihenfolge wieder ab, wobei ich darauf achte, daß die Tiere in der Lauge schwimmen. Handelt es sich nun um frischkonserviertes Material, so kann ich schon nach wenigen Minuten die Lauge absaugen und destilliertes Wasser (etwa 2-4 ccm) nachgießen. Die Mazeration ist dann in kurzer Zeit beendet, durch leichtes Erhitzen wird sie noch beschleunigt. Ist das Material aber älter, so lasse ich die Lauge eine oder mehrere

Stunden kalt oder warm einwirken, bevor ich das Wasser nachgebe. Zu empfehlen ist es, das angelagte Material über Nacht im destillierten Wasser liegen zu lassen. Nach beendeter Mazeration bringe ich die Tiere glasweise wieder auf ein großes Urglas, entferne den restlichen Leibesinhalt und überführe in Milchsäure, die ich vorher in die kleinen Urgläser gebe. Letztere stelle ich in der Reihenfolge der Kochgläser auf und schiebe die zugehörigen vorgeschriebenen Etiketten unter sie. Nachdem alle Präparate auf die Uhrgläser verteilt sind, füge ich der Milchsäure 1-2 Tropfen Berlese-Gemisch zu, mische die beiden Flüssigkeiten vorsichtig mit der Pipette, um zum Schluß das Material nach Verlauf von etwa $\frac{1}{2}$ Stunde oder später auf die inzwischen mit den Etiketten beklebten Objektträger zu bringen. Die Tiere sind jetzt sehr geschmeidig geworden. Ich überführe sie mit der Präpariernadel in das auf die Objektträger in dünner Schicht ausgebreitete Berlesegemisch, gebe ihnen die gewünschte Lage und decke vorsichtig mit dem Deckglase ab. Dabei muß ich darauf achten, daß etwaige Luftbläschen rasch entweichen können, ehe das Berlesegemisch anhärtet, da beim Erhitzen die Anordnung des Materials leicht wieder zerstört wird; am Rande des Deckgläschens fehlende Flüssigkeit wird sogleich nachgefüllt; der von Roepke empfohlenen Umrandung des Deckglases mit Deckglaskitt oder dergleichen bedarf es nicht. Das Präparat ist nunmehr fertig und wird in einer Präparatenmappe waagerecht abgelegt, bis es genügend angetrocknet ist und seine Lage auch bei anderer Aufstellung beibehält.

Ich habe das vorstehend beschriebene Präparationsverfahren nicht nur bei Blattläusen, sondern auch bei Schildläusen, Blasenfüßlern, Hautflüglern, Schmetterlingen, Insektenlarven, Spinnentieren und anderen kleinen Kerbtieren erprobt. Trockenes Insektenmaterial bringe ich zunächst auch in das Entfettungsgemisch, weil dieses die Luft ohne Erhitzen aus dem Tier austreibt, ich wasche dann, wie bereits beschrieben, mit Spiritus 78⁰/₀ aus und mazeriere in der Kalilauge. Ebenso verfähre ich auch bei der Präparation der Mund- und Geschlechtsanhänge der Insekten, von denen man auf diese Weise sehr saubere und plastische Präparate erhält. Das gilt überhaupt allgemein für Präparate des Chitinskelett's der Gliedertiere, wobei nur noch zu beachten ist, daß bei den mit sprödem Chitinpanzer versehenen Krebsen und Doppelfüßlern (Diplopoden) der im Chitin eingeschlossene kohlen-saure Kalk vor der Mazeration in Salzsäure-Alkohol ausgewaschen werden muß.

Nicht zu empfehlen ist die Mazeration in Kalilauge bei der Herstellung von Präparaten dünnhäutiger Insektenflügel, da sich deren Ober- und Unterhaut beim Erhitzen in der Lauge leicht voneinander lösen. Im allgemeinen bedarf es hierbei auch

nicht der Anwendung der Lauge. Ich bringe den vorsichtig an der Wurzel vom Körper abgetrennten Flügel in Milchsäure und erhitzte über der Sparflamme, um die Luft aus den Flügeladern zu entfernen. Der Flügel ist dann für den Einschluß in Berlese fertig. Die hornigen Flügeldecken der Käfer und anderer Insekten kann man durch Behandlung mit Diaphanol aufhellen und dann über Milchsäure in Berlese bringen. Die Schuppen der Schmetterlingsflügel lösen sich größtenteils von selbst ab, sobald die Milchsäure ins Kochen kommt; ich gebe dann frische Milchsäure nach und entferne den Rest der Schuppen mit dem Pinsel oder der Präpariernadel und schließe den Flügel in Berlesegemisch ein.

In ähnlicher Weise kann man im Schnellverfahren auch die Rollzunge der Schmetterlinge präparieren. Man trennt die Zunge (den Rüssel) vorsichtig am Grunde ab und bringt sie auf dem Objektträger in Milchsäure. Jetzt erhitzt man vorsichtig bis zum Siedebeginn. Dann lösen sich die beiden Rüsselhälften voneinander. Man bringt sie nun in die gewünschte Lage und saugt die Milchsäure ab, gibt das Berlese-Gemisch drauf und schließt mit dem Deckglas ab. Haben die Rüsselhälften gleichgerichtete Krümmung, so zeigen sie im fertigen Präparat Innen- und Außenansicht des Organs. Die Mundteile der Kleinschmetterlinge und rudimentäre Rüssel der Großschmetterlinge präpariert man jedoch besser mit dem Kopf in der weiter oben beschriebenen Weise mit Lauge und Milchsäure nach vorheriger Entfettung insbesondere etwa öliger Tiere.

Naumburg-Saale, April 1942.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Veröffentlichungen aus dem Übersee-Museum Bremen](#)

Jahr/Year: 1940-1942

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Börner Carl

Artikel/Article: [Über die Anfertigung mikroskopischer Präparate kleiner Insekten 267-272](#)