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

reading my memoir on the Cell-layers published in 1873, and he has stuck to that wrong conception ever since and has tought it to his pupil M. Fraipont. That is natural enough: I do not expect always to be read with care especially by those who are imperfectly acquainted with the English language. The strange feature about this discussion arises from M. Van Beneden's tenacity in maintaining his false notion as to what I had written, although I have exposed the error of his pupil. At the risk of being tedious and occupying too much space with mere personal reclamation, I feel bound to meet the statements of so respected a writer as Edouard Van Beneden. I have shewn clearly enough that he is labouring under a delusion as to the contents of my memoir »On the Cell-layers« and I trust that he will bow to the inexorable logic of facts, and confess himself wrong.

London, Sept. 23, 1881.

4. Berichtigung.

In meiner Notiz über die embryonale Entwickelung des *Doliolum* (Zoolog. Anzeiger No. 92) hat sich ein Fehler eingeflochten, den ich hier rectificiren will. An der Bildung des rosettenförmigen Organes betheiligen sich nicht nur das Ecto- und Entoderm des *Doliolum*, sondern auch das Mesoderm. Von den Mesodermplatten schnürt sich ein Haufen von Zellen ab, der dicht unter der Anlage des Herzens und unter den Entodermauswüchsen liegt. Diese Mesodermzellen vermehren sich rasch durch Theilung und gehen zusammen mit den Entodermauswüchsen und dem eingestülpten Theil des Ectoderms in die Bildung des rosettenförmigen Organes ein.

12. September 1881. B. Ulianin.

III. Mittheilungen aus Museen, Instituten etc.

1. Methoden zur Anfertigung von Dauerpräparaten mikroskopischer Organismen.

Von Prof. Géza Entz in Klausenburg.

Schon Ehrenberg war bestrebt, die zartesten und vergänglichsten Wesen zu fixiren und in Präparaten aufzubewahren. In einer am 21. Mai 1835 der königl. Akademie der Wissenschaften zu Berlin vorgelegten Arbeit[1], welcher er 600 mikroskopische Objecte beifügte, be-

[1] Mittheilung einer sehr einfachen Methode zum Festhalten, Vergleichen und Aufbewahren der feinsten und vergänglichsten mikroskopischen Objecte. Abhandl. d. kgl. Akad. d. Wiss. Berlin, 1835. p. 141.

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

richtet er, dass es ihm. nach vielen fruchtlosen Versuchen mit allen Arten von Firnissen und Einbalsamirungs-Stoffen, welche ihm nur irgend zugänglich waren, endlich gelang, eine eben so einfache, als zweckmäßige Conservirungsmethode zu ersinnen. Diese Methode besteht bekannterweise in dem raschen Eintrocknen der zarten Objecte auf Glas- oder Glimmerplättchen und nachfolgendem Einschließen. Es ist nicht zu leugnen, dass diese einfache Methode für gewisse Objecte die erwünschten Dienste leistet: so lassen sich z. B. die Form mancher Räderthierchen, Flagellaten und Ciliaten, die Geißeln der Flagellaten, die Structur der Cuticulargebilde und Panzer, die Schlundbewaffnung einiger Ciliaten etc. recht gut erhalten und zur Conservirung der Blutzellen und Samenfäden wird die Ehrenberg'sche Methode noch immer angewendet; die feineren Organisationsverhältnisse aber verschwinden durch das Eintrocknen theilweise gänzlich, theilweise werden sie verzerrt: die zarten protoplasmatischen Gebilde schrumpfen zu formlosen, glasartigen Klümpchen und Netzen; es entstehen Nebelbilder, welche der individuellen Phantasie den weitesten Spielraum lassen. Die von Ehrenberg verfertigten Präparate, an welchen er nach 27 Jahren den längst zurückgewiesenen polygastrischen Ernährungsapparat der Infusorien noch einmal ad oculos demonstriren zu können glaubte[2], heben die Nachtheile und das Trügerische der Eintrocknungs-Methode recht sprechend hervor.

Dennoch ist diese älteste Methode durchaus nicht ganz zu verwerfen; für gewisse Objecte leistet sie, wie gesagt, verhältnismäßig gute, und etwas modificirt noch bessere Dienste. Ich versuchte die durch rasches Eintrocknen gewonnenen Präparate mit verdünntem Glycerin (1 Th. dest. Wasser, 1 Th. Glycerin und auf eine größere Quantität 1—2 Tropfen Picrinsäure) aufzuweichen und wurde durch den Erfolg recht befriedigt. Die geschrumpften Theile quollen wieder auf und präsentirten sich ganz lebensvoll. Namentlich lassen sich auf diese Weise die Volvocinen, Chlamydomonaden, Trachelomonaden, Chloropeltideen, die gepanzerten Eugleniden (z. B. *Euglena acus* und *E. spirogyra*), Peridineen, die Schalen der Rhizopoden, Röhren der *Melicerta ringens* etc. sehr gut erhalten; aber auch von einigen Ciliaten mit dichterem Plasmaleibe oder resistenterer Cuticula (z. B. *Stentor igneus*, *Epistylis plicatilis*) habe ich durch diese Methode recht brauchbare Präparate erhalten. Auch der rosenkranzförmige Kern des *Stentor polymorphus*, *St. coeruleus* und *Spirostomum ambiguum* lässt sich sehr gut erhalten und giebt, namentlich wenn der Kern mit Anilinfarben

---

[2] Über die seit 27 Jahren noch wohl erhaltenen Organisations-Präparate des mikroskopischen Lebens. Abhandl. d. kgl. Akad. d. Wiss. Berlin, 1862. p. 39.

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

gefärbt wurde, sehr instructive Präparate. Ferner ist diese Methode für feine Chitingebilde, z. B. Kauapparate der Räderthierchen und kleiner Nematoden, oder für das zierliche Haftorgan der Trichodinen etc. recht geeignet. Dass sich nach dieser Methode auch Schizomyceten, entweder ungefärbt, oder mit Fuchsin, Methylviolett oder Quinolein, ganz vorzüglich erhalten lassen, ist wohl selbstverständlich, da Herr Kreisphysicus Dr. Koch dieselbe Methode, — nur mit dem Unterschiede, dass er zum Aufweichen der angetrockneten Schizomyceten eine Lösung von essigsaurem Kali empfiehlt, — schon seit mehreren Jahren anwendet[3]. Auf sehr viele mikroskopische Organismen ist aber auch diese modificirte Ehrenberg'sche Methode nicht anwendbar, da die feinen Organisationsverhältnisse des Protoplasmaleibes theilweise oder gänzlich verschwinden.

In neuerer Zeit sind zur dauernden Erhaltung der niedersten Organismen verschiedene Conservationsflüssigkeiten empfohlen und angewendet worden. Du Plessis empfiehlt als bestes Mittel mit chromsaurem Kali oder bloßer Chromsäure gefärbtes Glycerin, ohne die Quantitäts- und Concentrationsverhältnisse anzugeben[4]. Vor 4 Jahren (1877) brachte H. C. J. Duncker durch J. Klönne u. G. Müller in Berlin Räderthierchen, Protozoen und niedere Algen in den Handel, welche sehr beifällig aufgenommen und von anerkannten Autoritäten (Cohn, Stein, Leuckart u. A.) lobend erwähnt wurden. Auch ich bezog von Duncker eine Reihe von Präparaten (Räderthierchen, Flagellaten, Arcellen, Closterien) und war durch die vortreffliche Erhaltung der zarten Organismen eben so erfreut als überrascht; in der That schienen die Duncker'schen Präparate Alles zu leisten, was man, — wie Stein bemerkt, — von derlei Präparaten überhaupt nur erwarten kann. Schon nach einigen Wochen wurde ich aber von dem Umstande unangenehm berührt, dass sich in der Conservationsflüssigkeit bräunliche ölartige Tröpfchen auszuscheiden begannen, welche sich namentlich an den Contouren der Objecte massenhaft ansammelten; allmählich fing auch der protoplasmatische Inhalt der zarten Organismen sich wie rauchig zu trüben und bräunen, und jetzt, nach 2 Jahren, sind sämmtliche Präparate gebräunt, mit massenhaften Tröpfchen übersäet und so zu sagen ganz unbrauchbar. Meines Wissens hat Duncker seine Methode, durch welche sich auch die zartesten Organismen fixiren und, wenigstens eine Zeit lang, recht gut erhalten lassen, noch nicht veröffentlicht; es scheint mir aber sehr wahrschein-

---

[3] O. Bachmann, Leitfaden zur Anfertigung mikroskopischer Dauerpräparate. München, 1879. p. 137.

[4] De l'action des substances médicamenteuses sur les infusoires. Lausanne, 1863, Leuckart, Bericht. Arch. f. Naturg. 1864. II. Bd. p. 162.

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

lich, dass das Geheimmittel, wie dies in der Zeitschrift für Mikroskopie behauptet wurde[5], nichts Anderes ist, als der den Histologen längst bekannte, aber bereits auch fast ganz aufgelassene gereinigte Holzessig (Acidum pyrolignosum rectificatum), welcher in kleiner Quantität unter das Deckgläschen gesogen die mikroskopischen Organismen allerdings rasch tödtet, ohne deren Form und Organisation merklich zu schaden, aber den Nachtheil hat, sich mit der Zeit zu schwärzen. Ein gleiches Schicksal dürfte jene Infusorien-Präparate ereilen, welche, nach Bachmann's Angabe, mit Anilinfarben enthaltenden Holzessig hergestellt werden.

Neuestens hat Certes zur Herstellung von Dauerpräparaten von Protozoen und anderen mikroskopischen Organismen Überosmiumsäure in Dampfform oder in 2%igen Lösungen, Färbung mit Picrocarmin und Einschluss in verdünntes Glycerin empfohlen[6]. Auch Bütschli erwähnt, dass er sich von der trefflichen Fixirung der Ciliaten und Flagellaten durch Osmiumdämpfe schon vor längerer Zeit überzeugt, auch Glycerinpräparate von seinen Schülern hat herstellen sehen, die als sehr gut gelungen bezeichnet werden mussten[7]. Dass sich derlei Präparate auch längere Zeit halten dürften, möchte ich daraus schließen, dass, nach Thanhoffer's Erfahrung, die von ihm und Leo Davida mit 1%iger Überosmiumsäure behandelten Glycerinpräparate von Blutzellen seit 5—6 Jahren unverändert blieben[8].

Unbekannt mit der Certes'schen Methode und lebhaft angeeifert durch das treffliche Gelingen der Fixirung mikroskopischer Organismen durch Duncker, bestrebte ich mich die Nachtheile der Dunckerschen Methode, namentlich die nachherige Bräunung der Präparate zu vermeiden. Fortgesetzte Versuche führten mich zu sehr erfreulichen und befriedigenden Ergebnissen, welche ich im Folgenden mittheilen will.

Nach meiner Erfahrung sind zur Fixirung der kleinsten und zartesten Organismen verschiedene, längst bekannte Mittel geeignet: namentlich der rectificirte Holzessig, dann der »Liqueur salin hydrargyrique« von Blanchard, in der Mischung, wie sie Arnold Lang zur Conservirung der See-Planarien empfiehlt[9] und welche Lösung, nebenbei bemerkt, in meinem Institute von Herrn Parádi auch zur Fixirung der Süßwasser-Turbellarien mit bestem Erfolge angewendet wird;

---

[5] Bachmann, op. cit. p. 109.

[6] Sur une méthode de conservation des Infusoires. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. T. 88. Paris, 1879. p. 433.

[7] Zoolog. Jahresbericht für 1879. I. Hälfte. Leipzig. 1880. p. 173.

[8] L. v. Thanhoffer, Das Mikroskop und seine Anwendung. Stuttgart, 1880. p. 110.

[9] Zoolog. Anzeiger, No. 1, p. 14.

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

ferner Picrinsäure: endlich die von Paul Mayer für niedere Thiere so warm empfohlene Picrinschwefelsäure[10], von welchen die letztgenannte unbedingt vor Allen den Vorzug verdient. Alle diese Mittel, deren Liste keinesfalls erschöpft ist, tödten die mikroskopischen Organismen augenblicklich, ohne deren Organisation zu zerstören: es erhalten sich Geißeln und Cilien, die Saugfüße der Acinetinen, ja sogar die feinen Pseudopodien der Heliozoen, die Stiele auch der zusammenschnellenden Vorticellinen, sammt dem Stielmuskel, die contractilen Vacuolen, meist in mäßiger Ausdehnung, der Schlund und die Verdauungs-Vacuolen; Euglenen und Amoeben lassen sich in ihren verschiedenen Gestaltsveränderungen fixiren; die Räderthierchen sterben meist mit mäßig eingezogenem Wirbelorgan, eben so die Vorticellinen, doch wird man auf *Carchesium*- und *Epistylis*-Stöcken auch solche Exemplare erhalten, welche im Momente des munteren Wirbelns fixirt wurden; eben so lebensvoll werden Infusorien in der Theilung und Conjugation, die Vorticellinen in der knospenförmigen Conjugation fixirt; was endlich die Kerngebilde betrifft, so treten diese äußerst scharf hervor, selbst die Nucleoluskapseln ließen sich mit Beibehaltung ihrer Streifung prächtig erhalten und zum ferneren Studium conserviren. Auch Spongillen, Hydren, kleine Nematoden, Bärenthierchen, zarte Insectenlarven, so wie Wimperzellen, z. B. von den Kiemen der Muscheln, lassen sich vortrefflich fixiren und aufbewahren. Um aber dauernde Präparate zu erhalten, ist es durchaus nothwendig, die Flüssigkeit, welche ihre ausgezeichneten Dienste bei der Fixirung und durch das Fixiren bereits erfüllt hat, nach längerem Einwirken aber die feine Organisation zerstört, zu entfernen und die Präparate erst nachher in einer geeigneten Flüssigkeit einzuschließen.

Mein Verfahren ist im Wesentlichen dasselbe, wie es Paul Mayer für die Behandlung niederer Seethiere mit Picrinschwefelsäure angiebt.

Ich gebe die Protozoen und andere mikroskopische Organismen sammt Algen, Bodenschlamm oder sonstigen Objecten, auf welchen sie festsitzen, oder zwischen welchen sie sich herumtummeln, mit etwas Wasser in ein Uhrgläschen, tropfe dann von der zur Fixirung dienenden Flüssigkeit einige Tropfen hinzu, welche ich nur 1—2 Minuten einwirken lasse. Nun schütte ich die Flüssigkeit behutsam ab oder hebe das Präparat einfach mit einem Pinsel oder mit einem Scalpell heraus, um es sogleich in eine größere Quantität von nicht allzustarkem Alcohol zu übertragen. Eine halbe Stunde ist gewöhnlich genügend, die Fixirungsflüssigkeit den Präparaten zu entziehen und durch Alcohol,

---

[10] Über die in der zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mittheil. Zool. Station Neapel, 1880. II. Bd. 1. Hft. p. 1—27.

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

welcher durchaus keine nachtheilige Wirkung hat, zu ersetzen. Aber auch längere Zeit können die Präparate ohne Schaden in Alcohol bleiben und auch für später aufbewahrt werden. Zur Entfernung des Chlorophyllfarbstoffes mancher Infusorien, so wie der in den Präparaten enthaltenen Algen, ist natürlich ein längeres Verweilen in Alcohol nöthig, auch ist der bereits gefärbte Alcohol durch reinen zu ersetzen.

Die auf diese Weise behandelten mikroskopischen Organismen sind bereits fertig, um in verdünntes Glycerin (1 Th. dest. Wasser auf 1 Th. Glycerin) eingeschlossen zu werden. Um aber schöne und instructive Präparate zu erhalten, wird man das Färben nicht unterlassen. Unter den gebräuchlichen Färbemitteln (Carmin, Hämatoxylin, verschiedene Anilinfarben) verdient der Picrocarmin jedenfalls den Vorzug, da er in Glycerin nicht bleicht und nicht Alles eintönig färbt, wie die Anilinfarben, sondern vorzüglich die Kerngebilde tingirt und sie recht hervortreten lässt. Die aus Alcohol in Pikrocarmin übertragenen Präparate sind meist in 10—20 Minuten hinlänglich gefärbt, nur gepanzerte Formen, wie *Euglena spirogyra*, die *Phacus*-Arten, die Peridineen etc. brauchen mehrere Stunden, um ihre Kerne deutlich hervortreten zu lassen. Vor der Übertragung in verdünntes Glycerin müssen die Präparate natürlich in destillirtes Wasser kommen, wo sie so lange bleiben, bis die gelbe Picrinsäure ausgezogen ist und das Präparat eine gefällige rosige Färbung zeigt. Nach dem angegebenen Verfahren erhält man prachtvolle und instructive Präparate, welche, sorgfältig eingeschlossen, sich nicht weiter verändern; ich besitze wenigstens eine ziemlich ansehnliche Sammlung von verschiedenen Protozoen, welche sich seit 6—7 Monaten nicht im mindesten veränderten und sowohl als Demonstrationsobjecte, als auch zum eingehenderen Studium geeignet sind.

Klausenburg, den 29. Sept. 1881.

IV. Personal-Notizen.

Christchurch, New Zealand. — Dr. Wilhelm Haacke, früher Assistent an den zoologischen Instituten zu Jena und Kiel, ist seit Anfang August 1881 als Assistent am Canterbury Museum in Christchurch, New Zealand, beschäftigt.

Berichtigung.

No. 94, p. 531 Z. 15 v. o. lies: *Megachile*-Zellen statt *Megachile*-Gallen.

Druck von Breitkopf und Härtel in Leipzig.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zoologischer Anzeiger

Jahr/Year: 1881

Band/Volume: 4

Autor(en)/Author(s): Entz Geza Sr.

Artikel/Article: 1. Methoden zur Anfertigung von Dauerpräparaten mikroskopischer Organismen 575-580