

ABHANDLUNGEN UND BERICHTE DES NATURKUNDEMUSEUMS GÖRLITZ

Band 66, Nummer 6

Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz 66, 6: 1-11 (1993)

ISSN 0373-7568

Manuskriptannahme am 17. 12. 1991

Erschienen am 15. 2. 1993

Sammel- und Präparationsmethoden für Bodenarthropoden

Von WALTHER HÜTHER

Mit 2 Abbildungen

Summary

Sampling and preparation methods for soil arthropods.

The following methods for sampling and preparation are described:

1. A new respirator (Exhaustor) for sampling animals directly into fixation fluid or a tube for cultivation.
2. Three simple methods for sampling (two flotation methods and 1 method by ocular sampling).
3. Fixation and preservation.
4. Five methods for clearing.
5. Two water containing fluids for permanent slide preparations (gummi arabicum and polyvinyl-lactophenol).
6. Four depigmentation methods for cuticula pigments as well as cell pigments.
7. Preparation of material dried out.
8. Demontation of ancient polyvinyl slide preparations.
9. Staining of cuticula structures by chlorazol black.

1. Einleitung

Die Zahl vor allem der Sammel-, aber auch der Präpariermethoden für die einzelnen Tiergruppen ist sehr groß, und es würde zu weit führen, hier einen auch nur annähernd vollständigen Überblick zu geben (siehe hierzu u.a. BALOGH 1958). Im folgenden will ich lediglich meine Erfahrungen bezüglich der Präparation von Mikroarthropoden darstellen sowie einige einfache, auf Exkursionen und Forschungsreisen leicht durchführbare Sammelmethoden beschreiben. Bei drei der Präparationsmedien habe ich die von mir verwendeten Abkürzungen erwähnt, die ich auch für die Beschriftung der Dauerpräparate nutze. Meine Versuche beziehen sich in erster Linie auf Collembolen, Pauropoden und Symphylen.

2. Sammelmethoden

2.1. Exhaustor

Ein vielseitig verwendbarer Exhaustor ist in Abb. 1 dargestellt. Der Glaseinsatz c ist auswechselbar, so daß sein Durchmesser jeweils der Größe der zu sammelnden Tiere angepaßt werden kann, meist verwende ich einen mit 2 mm Innendurchmesser an der Spitze. - Der Innendurchmesser von d und f sollte aus physikalischen Gründen dem von b entsprechen oder (besser) etwas größer sein (bei käuflichen Exhaustoren ist dies fast nie der Fall).

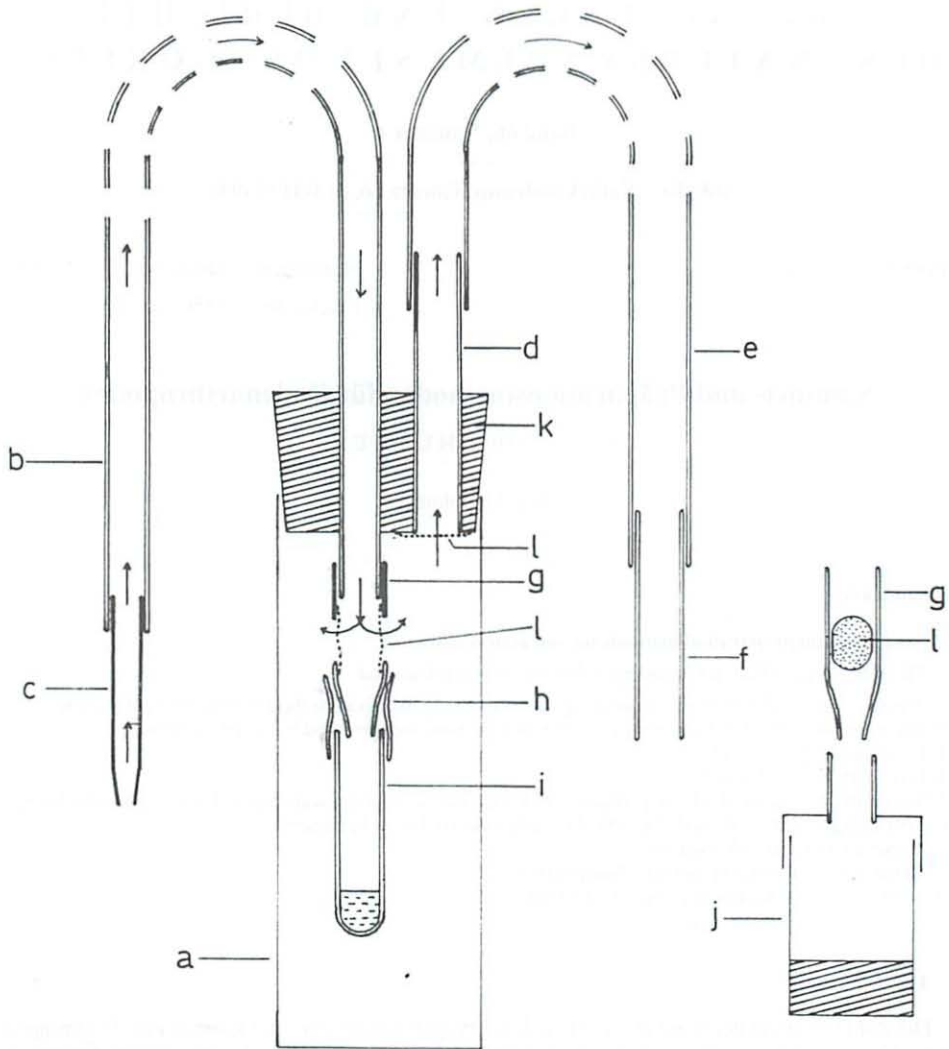


Abb. 1 Exhaustor

- a = Kunststoffgefäß 40x105 mm (als Tötungsglas für Cyankali im Handel erhältlich)
- b = Plastikschauch (PVC), Innendurchmesser 5 mm, Länge 370 mm
- c = auswechselbarer Glasrohr-Einsatz, Innendurchmesser objektbezogen
- d = Glasrohr, Innendurchmesser 8 mm
- e = Gummischlauch, Länge 300 mm
- f = Mundstück, Länge 40 mm
- g = Kunststoffschlauch (PVC) mit Planktongaze (l), Länge 35 mm
- h = Gummischlauch zur Befestigung von i oder j
- i = Glasröhrchen mit Fixierflüssigkeit, Innendurchmesser 8 mm
- j = Zuchtgefäß
- k = Korken
- l = Planktongaze, Maschenweite 100 µm

g ist ein Stück PVC-Schlauch, dessen Innendurchmesser dem Außendurchmesser von b entspricht. Durch vorsichtiges Erwärmen kann er dehnbar gemacht und durch Erweitern und Verengen in die abgebildete Form gebracht werden. In zwei gegenüberliegende Stellen wird je ein Loch von etwa 6 x 8 mm geschnitten, das mit Planktongaze (Maschenweite 100 µm) verschlossen wird. - Der Luftstrom ist in Abb. 1 eingezeichnet: Die durch c angesaugten Tiere werden an der Planktongaze in g aus dem Luftstrom herausgefiltert und fallen in das Sammelröhrchen i. Will man die Tiere lebendig fangen oder einzelne aus Zuchten entnehmen, so ersetzt man das Sammelröhrchen i durch das Zuchtgefäß j, in dessen Deckel ein kurzes Glasrohr von entsprechendem Durchmesser eingeklebt ist. - Als Klebstoff für die Gaze und das Rohr im Deckel des Zuchtgefäßes eignet sich ein Zweikomponenten-Kleber (z.B. UHU-plus), der Kunststoff sehr gut klebt.

Für die Dauer des Sammelns füllt man nur wenig Fixierflüssigkeit in das Röhrchen i, um zu vermeiden, daß Teile des Exhaustors, vor allem g, benetzt werden. Selbstverständlich muß das Gerät auch möglichst senkrecht gehalten werden.

Nimmt man c, g, h und i ab, so kann das Gerät wie ein normaler Exhaustor zum Absaugen von Moosspolstern und dergleichen verwendet werden. Für diesen Zweck ist die innere Öffnung von d ebenfalls mit Gaze überspannt.

2.2. Arlé'sche Methode

Während eines Forschungsaufenthaltes in Brasilien zeigte mir Herr Dr. R. Arlé folgende von ihm entwickelte einfache Methode zum Fang von Streu-Collembolen:

Eine Platte aus aufgerauhtem Plastik, Holz oder Pappkarton (etwa 20 x 30 cm) wird in die Laubstreu oder den Grasbewuchs gelegt. Dann klopft man mit den Händen auf die Streu in Richtung der Platte. Dadurch springen viele Collembolen auf diese und können mit dem Exhaustor gefangen werden. Wichtig ist, daß die Platte rauh ist, damit die Tiere darauf laufen können; anderenfalls springen sie sofort wieder weg. Als Farbe eignet sich blau oder grau, um genügend Kontrast gegenüber den Tieren zu bilden. - Neben Collembolen erhält man auch einige andere Arthropoden.

Hierfür 2 Beispiele aus der Bochumer Gegend:

Buchenhochwald, *Fagus sylvatica* (Sammeldauer 20 Minuten):

1 <i>Isotoma notabilis</i>	1 <i>Campodea</i> sp.
35 <i>Entomobrya muscorum</i>	1 Thysanoptere
7 <i>Lepidocyrtus</i> sp.	4 Hymenopteren
8 <i>Tomocerus</i> sp.	8 <i>Trichoniscus</i> sp.
3 <i>Megalothorax minimus</i>	12 junge Spinnen
1 <i>Arrhopalites</i> sp.	verschiedene Milben

Roteichen-Hochwald, *Quercus rubra* (Sammeldauer 10 Minuten):

1 <i>Willemia</i> sp.	1 <i>Megalothorax minimus</i>
7 <i>Onychiurus</i> sp.	1 <i>Sphyrotheca</i> sp.
1 <i>Folsomia quadrioculata</i>	1 Psocoptere
11 <i>Isotomiella minor</i>	1 Staphylinide
5 <i>Orchesella flavescens</i>	1 Pauropode.
38 <i>Tomocerus</i> sp.	

Nimmt man eine bestimmte Fangdauer als Vergleichsgröße, so lassen sich an einem Standort auch vergleichbare Fänge durchführen, wie mir Dr. Arlé anhand von Proben demonstrierte. - Die Methode dürfte etwa dem Kätschern bei Pflanzenbewohnern vergleichbar sein.

2.3. Schwemmethode nach EDWARDS (1958)

Substratproben bis etwa 100 ml werden in Leitungswasser aufgeschwemmt. Verschiedene schwer benetzbare Bodenarthropoden, besonders Symphylen und Collembolen, schwimmen dabei auf die Oberfläche und können von hier abgenommen werden. - Die Methode eignet sich für die meisten Böden, auch humose Waldböden. Ob sie bei manchen Arthropodengruppen auch zu quantitativ guten Ergebnissen führt (EDWARDS 1958 arbeitete vorwiegend nach dieser Methode), muß noch genauer nachgeprüft werden.

2.4. Alkohol-Schwemmethode

Substratproben bis etwa 100 ml werden in höchstprozentigem Alkohol (am besten Isopropanol) oder dem unter 3.1. angegebenen Gemisch fixiert und können so beliebig lange aufbewahrt werden, mindestens aber 1 Woche. Danach wird der Alkohol dekandiert und das Substrat in einem größeren Glasgefäß (Inhalt etwa das 8 - 10fache des Probenvolumens) in Leitungswasser aufgeschwemmt und zerteilt, falls es nicht von selbst zerfällt. Dabei bilden sich an den Arthropoden kleine Gasbläschen, die die Tiere nach oben tragen; Pflanzenreste und Bodenteilchen sinken nach unten. Man wartet, bis die ersten Tiere durch Verlust der Gasblase an der Wasseroberfläche wieder herabsinken und gießt dann das Wasser durch einen mit Planktongaze (Maschenweite 100 µm) verschlossenen, weiltumigen Trichter (Abb. 2).

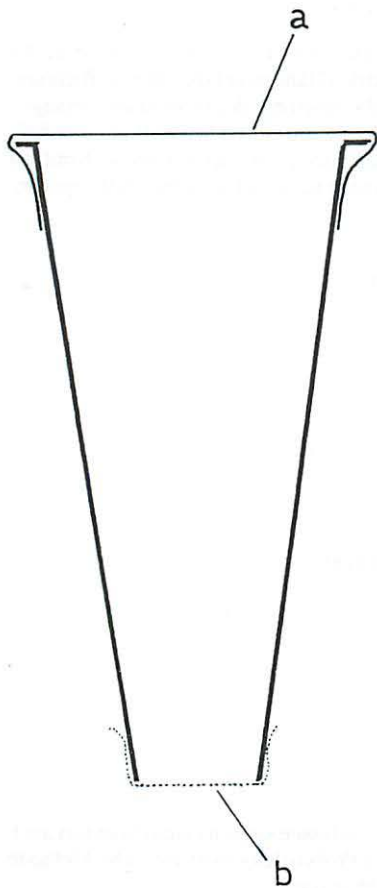


Abb. 2

Trichter für die Alkohol-Schwemmethode
(oberer Durchmesser 40 mm; unterer Durchmesser 16 mm;
Höhe 85 mm;
a = elastische Membran, abnehmbar; b = Planktongaze, mit
einem Gummi befestigt)

Die obere Öffnung des Trichters wird mit einer elastischen Membran (Gummi oder dergl.) verschlossen. Durch Eindrücken und Loslassen derselben wird abwechselnd Wasser durch die Gaze gedrückt und Luft von unten durch sie angesaugt. Dadurch wird sie nicht verstopft, und aufgeschwemmte Teilchen werden ausgewaschen (einfacher ist es, diese Pumpbewegungen mit der flachen Handfläche, mit der man die obere Öffnung des Trichters verschließt, durchzuführen). Nach drei- bis viermaligem Wiederholen des Aufschwemmens (ohne Alkohol-Zwischenbad) verbleiben fast nur noch größere und schwere Tiere (vorwiegend Rüsselkäfer und große Oribatiden), sowie Dipterenlarven, für die dieses Verfahren ungeeignet ist. Die Methode ist bei den meisten Böden anwendbar, auch bei humosen Waldböden; sie eignet sich jedoch nicht für die oberste Streuschicht von Fichtenwaldböden. Einen quantitativen Vergleich mit einer der z.Z. gebräuchlichen Varianten der Berlese-Methode oder einer anderen Schwemmmethode habe ich noch nicht durchgeführt. Die Methode eignet sich auch sehr gut, um die mit Auslesetrichtern gewonnenen Tiere von beigemengtem Substrat zu trennen.

3. Präparationsmethoden

3.1. Fixierung und Aufbewahrung

Das Material wird in folgendem Gemisch fixiert (modifiziert nach GISIN 1960):

Alkohol 96-100%ig	75 ml
Diäthyläther	25 ml
Formol 33-40%ig	0,3 ml

Durch den Diäthyläther werden die Tiere sofort benetzt, von dem Fixiergemisch durchtränkt und sinken unter. Außerdem werden sie entfettet, was für die weitere Präparation wichtig ist. Wird kein Äther verwendet, so ist auf jeden Fall die Verwendung von höchstprozentigem Alkohol ratsam (Isopropanol benetzt außerdem besser als Äthanol). Ich habe schon Collembolen erhalten, die monatelang in 70%igem Alkohol lagen, ohne daß sie fixiert waren, da sie in einer Luftblase eingehüllt waren. In solchen Fällen werden die Objekte, obwohl im Alkohol, bakteriell angegriffen. Auf jeden Fall sollten die Tiere auch nachträglich noch entfettet werden, mit Äther oder durch längeres Kochen in 96%igem Alkohol, wie RUSEK (1975) empfiehlt. - Durch den Formolzusatz wird verhindert, daß die Tiere bei der weiteren Präparation leicht platzen, die Aufhellung wird durch diese geringe Menge nicht beeinträchtigt.

Die Röhrchen mit den im Fixiergemisch liegenden Tieren werden mit einem Wattepfropf verschlossen, der mit einer dünnen Plastikfolie umgeben ist. Dabei ist darauf zu achten, daß der Wattepfropf sehr fest ist, und die Folie muß so dünn sein, daß keine Falten entstehen, in denen Tiere hängen bleiben können. - Die Aufbewahrung der kleinen Röhrchen (ich verwende solche von 30 mm Länge und 4 mm Innendurchmesser) erfolgt in einem größeren Gefäß mit 75%igem Alkohol, in dem das Fixiergemisch trotz der Folie nach und nach in den umgebenden Alkohol diffundiert.

Die Fixierdauer sollte bei empfindlichen Objekten mindestens 10 Tage betragen, besser 3 - 4 Wochen. Bei zu kurzer Fixierungszeit platzen die Tiere in den Aufhellungsmedien oder im Einschlußmittel. Mit diesem Gemisch behandelte Tiere sind meist auch noch nach mehreren Jahren gut zu präparieren.

3.2. Aufhellen

In alle im folgenden angeführten Medien werden die Tiere aus Alkohol oder Wasser übertragen. Welches davon verwendet wird, hängt vom Objekt ab und muß ausprobiert werden. Dabei kann auch ohne weiteres aus einem Medium in ein anderes übertragen werden.

3.2.1. Milchsäure

Für Massenbestimmungen verwende ich nach wie vor Milchsäure. Und zwar kommen die Tiere aus Alkohol in 50%ige Milchsäure. Diese läßt man in einem offenen Gefäß stehen, bis die Milchsäure durch Verdunsten des Wassers konzentriert ist (etwa 1 Tag bei Zimmertemperatur, man kann auch

auf 40 - 50°C erwärmen). Nur bei stark deformiertem oder stark sklerotisiertem Material sollte die Milchsäure bis zum Sieden erhitzt werden. - Bei kurz fixiertem Material ist ein Zusatz von 1 - 2 ml Glycerin (GISIN 1960) oder Karion F flüssig pro 10 ml Milchsäure zweckmäßig, damit die Tiere nicht so leicht platzen. Je älter das Material ist, desto geringer sollte der Zusatz sein, da er die Streckung der Tiere stark beeinflusst, besonders Glycerin. Es lassen sich hierfür keine festen Regeln aufstellen; eventuell muß zwischendurch gewechselt werden, wenn die Streckung zu gering ist oder die Tiere zu platzen drohen.

3.2.2. Lactophenol (ROMEIS 1968)

Phenol	20 g
Milchsäure	20 g
Glycerin	10 g
Aqua dest.	20 ml

Die Aufhellung von altem Material ist meist etwas besser als in Milchsäure. Die Pigmenterhaltung ist gut.

3.2.3. Chloralphenol

Die in der Literatur enthaltenen Angaben zur Herstellung von Chloralphenol sind sehr ungenau, da konkrete Mengenangaben fehlen. Bei allen Versuchen verwendete ich die folgende standardisierte Mischung:

Phenol	300 g
Chloralhydrat	245 g
Aqua dest.	30 ml

Das Material kann direkt aus Alkohol übertragen werden oder erst in Milchsäure gestreckt oder in 1%iger Kalilauge (KOH) etwas mazeriert und gestreckt werden (je nach Größe 5 - 60 Minuten; siehe 3.5.). Die Objekte lassen sich auch ohne weiteres aus dem Chloralphenol in Milchsäure oder 1%ige Kalilauge übertragen, wenn die Ergebnisse unbefriedigend sind.

Schwach pigmentierte Objekte werden oft ganz oder zum Teil entfärbt, vor allem bei Verwendung alter Lösungen oder zusätzlicher Behandlung mit Milchsäure oder KOH. Stark pigmentierte Tiere, bei denen dies oft wünschenswert ist, verändern sich dagegen nicht oder nur wenig.

3.2.4. Chloralhydrat-Karion

Chloralhydrat	8 g
Karion F flüssig	1 ml (Typenbezeichnung siehe 3.3.1.)
Aqua dest.	6 ml

Dies ist das schonendste Aufhell-Medium und daher vor allem bei kurz fixiertem Material zu empfehlen. In frischer Lösung ist die Pigmenterhaltung sehr gut, nach längerer Zeit (2 - 3 Jahre) werden jedoch teilweise die Pigmente gelöst. Das Gemisch sollte daher öfters erneuert werden. Das Karion verhindert ein Auskristallisieren des Chloralhydrates beim Verdunsten des Wassers, die Lösung kann daher auch als Untersuchungsflüssigkeit verwendet werden.

3.2.5. Marc André (nach MASSOUD 1967)

Chloralhydrat	40 g (40 ml nach MASSOUD 1967)
Essigsäure	30 ml
Aqua dest.	30 ml

Die Aufhellung und meist auch die Streckung sind sehr gut, schwach pigmentierte Tiere werden aber meist entfärbt. Bei der Verwendung ist zu beachten, daß durch Verdunsten der Lösungsmittel das Chloralhydrat leicht auskristallisiert.

3.3. Einschlußmittel

Besondere Schwierigkeit bereitet die Herstellung von Dauerpräparaten weichhäutiger Mikroarthropoden. Kanadabalsam oder ein diesem entsprechendes Kunstharz eignen sich meist nicht, da bei der Entwässerung die Tiere oft sehr stark deformiert und auch beschädigt werden; außerdem ist der Brechungskoeffizient sehr hoch. Von dem von Berlese zu Beginn des Jahrhunderts erstmals verwendeten Gummi arabicum-Chloralhydrat-Gemisch gibt es mittlerweile eine Vielzahl von Modifikationen. Ein großer Nachteil aller der von mir getesteten derartigen Medien ist, daß sich nach längerer Zeit Kristalle bilden und vom Rand her Luftbläschen nach innen gezogen werden (wohl durch unterschiedlich rasches Trocknen am Rand und in der Mitte), die manchmal das ganze Objekt umschließen und eine erneute Präparation erforderlich machen. Eine Umrandung der Präparate hält meist auch nicht auf Dauer. - Das Anfang der sechziger Jahre viel verwendete Polyvinyl-Lactophenol in seinen verschiedenen Varianten ergibt zunächst zwar gute Präparate, nach einigen Monaten oder Jahren sind zarte Objekte jedoch meist so deformiert, daß kaum noch Einzelheiten zu erkennen sind.

Bei dem im folgenden beschriebenen Einschlußmittel E65 ist eine Umrandung nicht nötig und es bilden sich trotzdem keine Kristalle und Luftbläschen.

3.3.1. Gummi arabicum-Gemisch E65

Gummi arabicum in Stücken (Granulat)	24 g
Karion Grießform (Merck Art. 2986) = Sorbit	12 g
Karion F flüssig (Merck Art. 2993)	12 ml
Chloralhydrat	60 g
Phenol	95 g
Aqua dest.	16 ml

Gummi arabicum in etwa 80 ml Wasser lösen und mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe filtrieren. Außer Verunreinigungen bleibt auch ein geringer gallertiger, nicht löslicher Rest im Filter (wird dieser nicht abfiltriert, so kann das gesamte Einschlußmittel später gallertig werden). - Sorbit in etwa 12 ml Wasser lösen und bis zum ersten Aufschäumen erhitzen. Nach Abkühlen zusammen mit dem Karion F flüssig mit der Gummi arabicum-Lösung mischen. Dann wird die gesamte Lösung bei 60 - 70° C unter ständigem Rühren auf 68 g eingedampft, womit etwa der angegebene Wassergehalt erreicht ist (wird bei niedrigerer Temperatur eingedickt, so kann es zu Bakterienwachstum und damit zur Trübung kommen). Dann werden nach und nach abwechselnd erst Chloralhydrat und dann Phenol gelöst (wird die gesamte Menge auf einmal gelöst, verklumpt das Gummi arabicum infolge des plötzlichen Wasserentzuges und löst sich danach nicht mehr richtig).

In dunkler Flasche aufbewahrt, ist das Gemisch jahrelang haltbar, es wird lediglich rötlichgelb. Ich verwende noch einen Ansatz von 1975; bei diesem hat sich allerdings jetzt an der Wand der Aufbewahrungsflasche ein gallertiger Belag gebildet, der nicht mehr zu verwenden ist.

Als Zwischenmedium kann eine der unter 3.2. genannten Lösungen verwendet werden. Milchsäure oder Lactophenol müssen erst in einem der anderen Medien oder in mit Chloralhydratlösung verdünntem E65 ausgewaschen werden; anderenfalls können sich Kristalle bilden (bei dünnen Präparaten selten, bei dicken meist), die allerdings manchmal von selbst wieder verschwinden. Beim Übertragen aus Chloralphenol oder Marc André 1 kann es bei großen, wenig sklerotisierten Objekten (große Symphylen und Collembolen) zu Deformationen kommen. Um dies zu vermeiden, setzt man bei solchen Objekten pro 10 ml Lösung 1 ml Karion F flüssig zu.

In den allermeisten Fällen verwende ich das Chloralhydrat-Karion-Gemisch (s. 3.2.4.), aus dem auch ohne weiteres in E65 übertragen werden kann. - Trocknen am besten etwa 14 Tage bei 40 °C. Eine Umrandung ist, wie erwähnt, nicht nötig.

3.3.2. Polyvinyl-Lactophenol (E14)

Polyvinylalkohol (Fa. Wacker W 28/20)	3 g
Karion F flüssig	6 ml
Phenol	45 g
Milchsäure	15 ml
Aqua dest.	22 ml

Milchsäure und Wasser mischen, das Phenol darin lösen und unter Rühren den PVAL dazu geben und lösen, am besten bei 40°C (dauert einige Tage), danach Karion F flüssig darunter mischen. Übertragen werden kann aus einem der unter 3.2. angegebenen Zwischenmedien ohne zusätzliche Behandlung. Große Objekte (Flöhe, Zecken) werden wie üblich in 5 - 10%iger Kalilauge (KOH) mazeriert und über Chloralphenol in E14 eingebettet, trocknen wie E65. Dabei erfolgt ein ziemlich starker Volumenverlust, weshalb bei dickeren Präparaten immer wieder Einschlußmittel nachgefüllt werden muß. - Auch hier ist keine Umrandung nötig. Dieses Einschlußmittel ist nur für stärker sklerotisierte Objekte zu verwenden und eignet sich wegen seiner einfachen Handhabung und Unempfindlichkeit im trocknen Zustand besonders gut für Anschauungs- und Kurs-Präparate (z. B. Mundwerkzeuge, Flöhe, Thysanopteren, Zecken usw.), bei denen es nicht so sehr auf Feinstrukturen ankommt.

3.4. Entfärben

Zum Entfärben stark pigmentierter Objekte wird meist 5 - 10%ige Kalilauge (KOH) verwendet. Diese zerstört jedoch die Gewebe schneller als die Pigmente, weshalb die Tiere so gut wie ganz mazeriert werden müssen. Bei der weiteren Präparation können sie dann leicht beschädigt werden, außerdem hellt die KOH auch die Cuticula-Strukturen sehr stark auf. Bringt man Tiere nach kürzerer KOH-Behandlung, während der sie hellrot wurden, in ein saures Untersuchungsmedium, so werden sie wieder fast so dunkel wie vorher. Diese Nachteile haben die folgenden Entfärbungsmittel nicht, in denen das Körpergewebe vollständig erhalten bleibt.

3.4.1. Cuticular-Farbstoff

3.4.1.1. Wasserstoffperoxid

Die Objekte werden direkt aus Alkohol oder Wasser in das handelsübliche (35%ige) oder (empfindliche Objekte) in mit Wasser 1:1 verdünntes Wasserstoffperoxid (H_2O_2) gebracht und die Ausbleichung unter dem Binokular kontrolliert. Nach kurzem Auswaschen in Wasser übertragen in eines der unter 3.2. genannten Zwischenmedien (bei Milchsäure ist kein Auswaschen nötig).

Inwieweit etwa bei Oribatiden und ähnlichen Objekten Feinstrukturen geschädigt werden, habe ich nicht untersucht. - Ein Nachteil des Peroxides ist, daß seine Konzentration bei längerer Lagerung abnimmt, so daß diese nicht genau eingestellt werden kann.

3.4.2. Körperpigmente

Wasserstoffperoxid bleicht nur Cuticular-Farbstoffe, bei Körperpigmenten ist es so gut wie wirkungslos.

3.4.2.1. Chlorwasser

Chlorwasser ist eine 0,4 - 0,5%ige Lösung von Chlor (Cl) in Wasser, die als Fleckenwasser viel benutzt wurde und vielleicht auch noch wird (früher in jeder Drogerie erhältlich).

Die Tiere werden aus Alkohol oder Wasser direkt in das Chlorwasser übertragen und während der Bleichung ständig kontrolliert. Sie sollen nicht länger als unbedingt nötig darin verbleiben, da auch die Cuticula-Strukturen wie in Kalilauge aufgehellt werden, was dann bei der Untersuchung von Feinstrukturen nachteilig sein kann. Nach kurzem Auswaschen in Wasser übertragen in eines der unter 3.2. genannten Aufhell-Medien.

Wie bei Wasserstoffperoxid nimmt auch bei Chlorwasser die Konzentration bei längerer Lagerung ab.

3.4.2.2. Kaliumdichromat

Es handelt sich hierbei um eine früher in der Fotografie zum Bleichen von Bildern und Negativen verwendete Lösung.

Kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_7$)	0,4 g
Schwefelsäure (H_2SO_4)	1,5 ml
Aqua dest.	60,0 ml

Übertragen aus Alkohol oder Wasser. Auch in dieser Lösung werden Cuticula-Strukturen aufgeheilt, weshalb die Objekte nicht länger darin bleiben sollen als unbedingt nötig. Nach dem Ausbleichen gut wässern (am besten über Nacht), da es sonst bei der weiteren Präparation zu Ausfällungen kommen kann. Eine geringe Gelbfärbung schadet jedoch nichts.

3.4.2.3. Chloralphenol-Salzsäure (CPH)

Chloralphenol (Kap. 3.2.3.)	100,0 ml
Salzsäure (HCl) konz./Wasser = 3/7	0,5 ml
Karion F flüssig	8,0 ml

Die Lösung ist zunächst farblos bis rötlich entsprechend der Farbe des verwendeten Phenols. Sie ist jahrelang haltbar, wird jedoch nach und nach braun (gleichgültig, ob in dunkler oder heller Flasche aufbewahrt). Dies hat jedoch kaum einen Einfluß auf ihre Wirkung. Die Tiere können aus Alkohol, Wasser oder einem der unter 3.2. beschriebenen Medien übertragen werden. Die Dauer der Entfärbung ist neben der Größe der Tiere, der Intensität des Pigmentes und der Temperatur auch von schwer erklärbaren Faktoren abhängig. So kann aus ein und derselben Probe ein Teil der Tiere nach einigen Stunden, ein anderer Teil erst nach einem Tag entfärbt sein. Tiere, die aus einem der Aufhell-Medien übertragen wurden, werden schneller entfärbt als solche aus Alkohol oder Wasser, und zwar um so schneller, je länger sie sich in dem Aufhell-Medium befanden. Im allgemeinen reichen 10 - 12 Stunden bei 40°C oder 1 Tag bei Zimmertemperatur. - Auch blutsaugende Gamasiden, die infolge ihres gefüllten Darms ohne völlige Mazeration undurchsichtig bleiben, werden in dem CPH entfärbt und durchsichtig.

Im Gegensatz zu den beiden zuvor genannten Mitteln, durch die die Pigmente gebleicht, aber nicht gelöst werden, lösen sich die Pigmente in dem CPH. Dabei werden die blauen, körnigen Pigmente in eine dunkelrote Form überführt, die in Lösung geht; man kann den Austritt des gelösten Pigmentes unter dem Binokular direkt beobachten.

Ein großer Vorteil dieser Methode ist, daß die Tiere ohne Beschädigung der Cuticula-Strukturen wochenlang in dem Gemisch verbleiben können, dabei gestreckt und aufgeheilt werden und dann direkt in eines der Einschlußmittel eingebettet werden können.

Eine ähnliche, aber viel schwächere Wirkung hat auch sehr altes oder stark erhitztes Chloralphenol allein, die Entfärbung dauert dann aber mehrere Tage bis Wochen.

3.5. Präparation von eingetrocknetem und schlecht fixiertem Material

Eingetrocknetes Material wird je nach Größe für 5 - 60 Minuten (im allgemeinen sind 10 - 15 Minuten ausreichend) bei Zimmertemperatur in 1%ige Kalilösung (KOH) gebracht, bis die Objekte wieder ihre ursprüngliche Gestalt angenommen haben. Dann kommen sie für einige Minuten bis unbegrenzte Zeit in Chloralphenol (am besten bei 40°C) und werden dann in E65 eingeschlossen. Hierbei ist kein Zusatz von Karion F flüssig zu dem Chloralphenol nötig.

Auch schlecht fixiertes Material kann auf diese Weise mit KOH behandelt werden; manchmal ist dafür höher prozentige KOH (2-3%ig) nötig. Doch sollte man dieses Verfahren nur dann anwenden, wenn eines der anderen Medien nicht zu brauchbaren Ergebnissen führt, oder bei stark sklerotisierten Objekten. Wie schon erwähnt, hellt die KOH auch die Cuticula-Strukturen stark auf.

Bei dieser Prozedur werden die Körperpigmente zum Teil oder ganz zerstört.

3.6. Auflösen alter Polyvinyl-Lactophenol-Präparate

Getrocknete PVAL-Präparate sind nicht mehr in Wasser löslich. Die Löslichkeit in anderen Lösungsmitteln hängt vermutlich vom Polymerisations- und Verseifungsgrad des verwendeten Polyvinylalkohols ab. Wahrscheinlich findet auch noch während des Trocknens eine weitere, durch das Phenol bedingte Polymerisation statt. Jedenfalls sind die Lösungseigenschaften des getrockneten Einschlußmittels ganz anders als die des ursprünglichen Polyvinylalkohols. - In den meisten Fällen kommt man mit dem folgenden Verfahren zum Ziel:

Präparate für mehrere Tage in eine feuchte Kammer legen, bis die Feuchtigkeit diese durchdrungen hat (was unter dem Mikroskop leicht nachzuprüfen ist) und dann in Wasser bringen. Hierbei ist jedoch Vorsicht geboten, da manche Gemische sehr stark quellen, so daß die eingeschlossenen Tiere zerreißen (bei dem beschriebenen E14 ist dies nicht der Fall). Dann übertragen in 1%ige KOH, bis sich das Deckglas ablöst. Sobald dann die Tiere aus dem Einschlußmittel herausgelöst sind, werden sie sofort in Chloralphenol ohne Karion-Zusatz übertragen und in E65 eingebettet (sie dürfen auf keinen Fall länger als unbedingt nötig in der KOH bleiben; siehe 3.4. und 3.5.). Manchmal werden die aus der feuchten Kammer oder dem Wasser kommenden Präparate schon in 1%igem Soda (Na_2CO_3), Chloralphenol oder einer Lösung von Chloralhydrat in Wasser im Verhältnis 1:3 bis 4:3 gelöst. Einige Präparate aus einem käuflichen Gemisch konnte ich dagegen überhaupt nicht mehr auflösen. Die Gründe dafür sind unbekannt.

3.7. Färben mit Chlorazol schwarz

Bei dem unter 3.6. beschriebenen Verfahren ist es bei kleinen Tieren (z.B. Pauropoden) zweckmäßig, dem Chloralphenol und dem E65 einige Tropfen einer fast gesättigten wässrigen Lösung von Chlorazol schwarz zuzusetzen (nur so viel, daß die Lösung noch gut durchsichtig ist, eine höhere Konzentration bewirkt keine stärkere Färbung; die Färbung der Cuticula erfolgt in wenigen Minuten und ändert sich dann kaum noch). Da die Gewebe durch die vorherige Behandlung weitgehend zerstört sind, wird nur die Cuticula angefärbt. Als Einschlußmittel wird das mit Chlorazol schwarz versetzte E65 verwendet.

Für nicht mazerierte Tiere eignet sich diese Färbung nicht. Bei ihnen wird in dem Chlorazol-E65-Gemisch der ganze Körper schwarz und damit undurchsichtig. Färbt man in dem Chlorazol-Chloralphenol nur die Cuticula an (Färbezeit einige Minuten), so löst sich in reinem E65 der Farbstoff wieder heraus.

Die Lösungen von Chlorazol in Chloralphenol und E65 sind höchstens wenige Wochen haltbar, es ist daher zweckmäßig, immer nur kleine Mengen zu mischen. Nach dem Trocknen des E65 bleibt die Färbung jedoch unverändert.

4. Zusammenfassung.

Folgende Sammel- und Präparationsmethoden werden beschrieben:

1. Ein neuer Exhaustor, mit dem die Tiere direkt in Fixierflüssigkeit oder ein Zuchtgefäß gesammelt werden können.
2. Drei einfache Sammelmethode (2 Schwemmethode, 1 Direkt-Methode).
3. Fixieren und Aufbewahren.
4. Fünf Aufhell-Medien.

5. Zwei wasserhaltige Einschlußmittel für Dauerpräparate (Gummi arabicum und Polyvinyl-Lactophenol).
6. Vier Entfärbungsverfahren für Cuticula- und Körperpigmente.
7. Präparation von eingetrocknetem Material.
8. Auflösen alter Polyvinyl-Präparate.
9. Anfärben von Cuticula-Strukturen mit Chlorazol schwarz.

Literatur

- BALOGH, J. (1958): Lebensgemeinschaften der Landtiere. - 2. Auflage, Berlin, 560 S.
- EDWARDS, C.A. (1958): The ecology of Symphyla. I. Populations. - Ent. exp. and appl. **1** : 308 - 319
- GISIN, H. (1960): Collembolenfauna Europas. - Genf, 312 S.
- MASSOUD, Z. (1967): Monographie des Neanuridae, Collemboles Poduromorphes à pièces buccales modifiées. - Biol. Amér. austr. **3**: 7 - 399
- ROMEIS, B. (1968): Mikroskopische Technik. - 16. Auflage, München, Wien
- RUSEK, J. (1975): Eine Präparationstechnik für Springschwänze und andere Gliederfüßer. - Mikrokosmos **1975**, **12**: 378 - 381

Anschrift des Verfassers:

Dr. W. Hüther
Ruhr-Universität Abt. Biologie / Spezielle Zoologie
W - 4630 B o c h u m 1