

Methode: **Gelegte Präparate von Diatomeen, Radiolarien und Foraminiferen**

Literatur: GÖKE, G.: MIKROKOSMOS 63, 223 - 228 (1974)

Anwendungsbereich: Präparatesammlungen

Als „Erfinder“ der gelegten Diatomeen-Präparate gilt J.P. Moeller aus Wedel in Holstein. In seinem wertvollen Tafelwerk (Wedel 1891) bezeichnet er sie als Typenplatten. Moeller hat in unübertroffener Genauigkeit besonders große Typenplatten geschaffen, von denen eine, mit über vier-tausend Einzelformen, als „Universum Diatomearum Moellerianum“ berühmt geworden ist. Ein anderer Präparator, der ebenfalls viele Typenplatten hergestellt hat, war E. Thum in Leipzig. Leider haben uns Moeller und Thum keine Beschreibung ihrer Präparationsmethoden hinterlassen.

Die Herstellung gelegter Präparate von Diatomeen, Radiolarien und Foraminiferen ist bereits in mehreren Arbeiten ausführlich beschrieben worden (1—5). Alle Verfahren wurden jedoch stets verbessert oder modifiziert. Dieser Beitrag faßt die bewährtesten Präparationsmethoden zusammen und soll den Anfänger mit einer Technik bekannt machen, zu der nicht mehr erforderlich ist als ein hohes Maß Konzentration, eine ruhige Hand und ein möglichst staubfreier Arbeitsplatz.

Neben den bekannten und leicht herzustellenden Streupräparaten, die einen guten Überblick über den Artenreichtum eines Vorkommens liefern, unterscheidet man drei Ausführungen von Typenplatten:

1. *Typenplatten*, in denen möglichst viele Arten von verschiedenen Vorkommen vereinigt sind. Sie sollen nur den Formenreichtum der Protisten zeigen und haben keinen wissenschaftlichen Wert.
2. *Fundortplatten*, die möglichst viele Arten eines einzigen rezenten oder fossilen Fundpunktes enthalten sollen. Sie haben einen großen wissenschaftlichen Wert.
3. *Genera-Platten*, die möglichst viele Arten einer Gattung von verschiedenen rezenten und fossilen Fundpunkten enthalten und den Artenreichtum der Gattung demonstrieren sollen (Bild 1).

Zu allen Typenplatten werden Listen angefertigt, die den Namen der Arten, den jeweiligen Fundpunkt und dessen geologische Daten enthalten. Neben diesen Präparaten gibt es von den Diatomeen auch sogenannte Testplatten, in denen nur Arten mit spezifischen Strukturen vereinigt wurden, die sich zur Prüfung des Auflösungsvermögens von Mikroskop-Objektiven und zur Optimierung einiger lichtmikroskopischen Verfahren eignen.

Andere gelegte Präparate, deren Herstellung dem Anfänger empfohlen werden kann, sind die Kreispräparate. Sie enthalten beliebig viele kreisförmig oder ornamental angeordnete Einzelformen. Sie haben keinen wissenschaftlichen Wert. Hin-

gegen spielen gelegte Präparate, die nur Schalen von einer Art enthalten und deren Variationsbreite zeigen, eine große Rolle bei der wissenschaftlichen Bearbeitung der Vorkommen.

Die Legeborste

Das wichtigste Hilfsmittel zur Herstellung von Typenplatten ist die Legeborste. Von ihrer Qualität und richtigen Handhabung ist das Ergebnis der Arbeit abhängig. Früher habe ich dafür die Augenwimper eines Schweines verwendet. Herr Albert Elger in Eutin hat mich jedoch auf die Vorteile von Igelborsten aufmerksam gemacht, die in verschiedenen Stärken zur Verfügung stehen und von einem überfahrenen Igel gewonnen werden können. Ganz feine und spitze Borsten sind für das Legen von Diatomeen geeignet. Die mittleren werden für Radiolarien und die groben für Foraminiferen verwendet. Ich stelle meine Legeborsten wie folgt her:

Eine 0,6 bis 0,8 mm starke Injektionsnadel wird zwei bis drei Millimeter oberhalb der Basis vorsichtig abgesägt. Die Schnittfläche wird glatt geschliffen. Eine unter dem Stereomikroskop ausgesuchte Igelborste wird mit UHU-hart oder einem ähnlichen Klebstoff bestrichen und so in das dünne Rohr eingeführt, daß die Spitze nur zwei bis drei Millimeter weit herausragt. Nach dem Aushärten des Klebstoffes wird die verkürzte und mit der Borste versehene Injektionsnadel auf ein bleistift dickes, etwa zehn Zentimeter langes Holzstäbchen gekittet. Am besten stellt man sich mehrere Legeborsten von unterschiedlicher Stärke her. Dabei ist zu beachten, daß zu lange Borsten federn, während man bei zu kurzen Borsten mit dem Metall der Hohnadel den Klebgrund berührt und beschädigt. Man kann die Borste auch direkt an ein Glas- oder Holzstäbchen kleben. Die beschriebene Ausführung ist jedoch dauerhafter.

Die Herstellung von Klebgrund-Deckgläsern

Die Deckgläser müssen mit einem sogenannten Klebgrund überzogen werden, der nur in feuchter Luft klebrig ist. An seine Qualität werden hohe Anforderungen gestellt. In der Literatur sind mehrere Klebmittel empfohlen worden, von denen die gebräuchlichsten nachfolgend beschrieben werden sollen.

Klebmittel nach Debes

Man löst 2 g weiße Gelatine in 75 ml Eisessig. Das dauert mehrere Tage. Dann wird die Lösung filtriert, was ebenfalls mehrere Tage in Anspruch nimmt und mit viel Substanzverlust verbunden ist.

In ein Gemisch von 3 g absolutem Äthylalkohol und 1,5 g Iso-Butylalkohol spritzt man unter ständigem Umrühren 5 ml von der klaren Gelatine-Eisessig-Lösung aus einer Pipette ein. Das fertige Klebemittel muß kühl und dunkel aufbewahrt werden. Die damit hergestellten Präparate vertragen keine Hitze und müssen bei Zimmertemperatur getrocknet werden. Das ist ein großer Nachteil dieses Mittels (1, 2, 3, 5).

Klebmittel nach Schmidt

5 g Zucker (Saccharose) und 2 ml Wasserglas werden unter Erwärmen in 100 ml Wasser gelöst. Nach dem Erkalten wird die Lösung filtriert. Sie ist nur wenige Monate haltbar. Die damit hergestellten Präparate vertragen Temperaturen bis 60 °C und können im Wärmeschrank getrocknet werden (1, 5).

Klebmittel nach Elger

Etwas weiße Gelatine wird in wenig Wasser gelöst, was mehrere Tage dauert. Dann fügt man unter Umrühren soviel Syndetikon (Fischleim) hinzu, daß die Mischung schmutzig braun gelb erscheint. Sie muß stets dünnflüssig bleiben. Die Lösung wird filtriert und ist etwa 1 Jahr lang haltbar. Beim Trocknen der Präparate führen höhere Temperaturen als 60 °C zu unschönen Rissen im Klebgrund, die besonders im Phasenkontrast oder Differential-Interferenzkontrast störend wirken (5).

Rohagit-Lösung nach Beck

1 g Rohagit-S niedrigviskos (Hersteller Röhm & Haas, Darmstadt) wird in etwa 50 ml dest. Wasser aufgeschlämmt und mit 10 ml 25%iger Ammoniak-Lösung versetzt. Man erhitzt im Wasserbad so lange, bis die Lösung klar geworden ist, filtriert durch Watte und verdünnt mit dest. Wasser auf 100 ml. Der mit diesem Mittel hergestellte Klebgrund verträgt Temperaturen bis 100 °C. Rohagit klebt nicht ganz so gut wie die vorgenannten Mittel. Da es aber hohe Temperaturen verträgt und im Präparat praktisch unsichtbar ist, verwende ich es für kleinere Typenplatten und gelegte Einzelformen (1).

Tragant-Lösung

Für Präparate von gelegten Einzelformen ist Tragant geeignet. 1 g Tragantpulver wird unter Erhitzen (im Wasserbad) in 100 ml dest. Wasser gelöst. Man filtriert die Lösung und setzt nach dem Erkalten 2 ml 40%iges Formol zu. Die damit hergestellten Präparate können bis 60° erhitzt werden. Bei höheren Temperaturen entstehen Risse im Klebgrund (2, 3, 4).

PVA-Lösung

Eine Lösung von 1 g Polyvinylalkohol in 100 ml dest. Wasser, der etwa 2 ml Formol zur Konservierung zugesetzt wurde, ist zum Aufkleben von Radiolarien und Foraminiferen geeignet. Dabei muß jedoch beachtet werden, daß sich nicht alle PVA-Qualitäten gleichgut in Wasser lösen lassen.

Die Beschichtung des Deckglases mit dem Klebgrund

Runde Deckgläser von 15 mm Durchmesser, die fettfrei und sauber sein müssen, werden mit einem Tropfen Klebelösung beschickt. Dann faßt man die einzelnen Deckgläser mit der Pinzette und neigt sie in alle Richtungen. Dabei soll sich der Tropfen gleichmäßig auf der Glasoberfläche verteilen. Anschließend werden die Deckgläser bei Zimmertemperatur oder im Wärmeschrank getrocknet. Zum Schutze der etwas dickeren Schalen klebt man drei bis vier Deckglassplitter in Form eines gedachten Dreiecks oder Vierecks mit einem winzigen Tröpfchen Klebelösung an den Rand eines jeden Deckglases. Es ist sinnvoll, eine ausreichende Menge von Klebgrund-Deckgläsern in einer staubdichten Schachtel oder Petrischale vorrätig zu halten.

Das Legen von Typenplatten, Kreispräparaten und Einzelformen

Geübte Präparatoren können eine Typenplatte aus freier Hand herstellen. Ein spezieller Objektisch, den man leicht selbst anfertigen kann, erleichtert die Arbeit jedoch wesentlich.

In eine Tischlerplatte von der Größe des Objektisches läßt man eine 8×8 cm große Glasplatte so tief ein, daß sie mit der Oberfläche der Holzplatte abschließt. Mit einem Tropfen Malinol oder Rhenohistol kittet man ein Okular-Netzmikrometerplättchen in die Mitte der Glasplatte. Die Feinteilung muß dem Objektiv zugekehrt sein.

Das mit einem Klebgrund versehene Deckglas wird mit einem sehr kleinen Tropfen Wasser luftblasenfrei auf dem Mikrometerplättchen befestigt. Ein schwarzer Objektträger oder die Deckscheibe eines schwarzen Färbenapfes (4×4 cm) wird mit dem unsortierten Material beschickt und neben das Mikrometerplättchen gelegt. Die gewünschten Formen werden mit der Legeborste vom Objektträger auf das Deckglas übertragen. Dabei wird die Holzplatte auf dem Objektisch so hin- und hergeschoben, daß wahlweise Deckglas oder Objektträger im Gesichtsfeld sind. Ein Gleitisch leistet bei solchen Arbeiten gute Dienste. Vom Kreuztisch muß die störende Objektführung abgenommen werden. Man kann mit einem normalen Mikroskop bei schwacher Vergrößerung oder mit einem Stereomikroskop arbeiten. An das umgekehrte Bild des normalen Mikroskops muß sich der Präparator erst gewöhnen, sofern er kein Okular mit bildaufrichtendem Prisma verwendet. Das Stereomikroskop liefert ein seitenrichtiges Bild bei relativ großem Arbeitsabstand. Es besitzt außerdem Handstützen, die das Zittern der Hand stark vermindern. Man arbeitet am besten im auffallenden Licht. Das setzt allerdings eine genaue Kenntnis der Objekte voraus, die im Auflicht anders aussehen als im Durchlicht.

Eine aussortierte Schale wird mit der Legeborste an die vorgesehene Stelle gelegt. Dann haucht man das Deckglas vorsichtig an. Die Feuchtigkeit der Atemluft weicht den Klebgrund auf. Wenn die Schicht nach ein bis zwei Minuten wieder trocken ist,

liegt die Schale unverrückbar fest. Eine Korrektur ist nicht mehr möglich. Auf diese Weise werden alle aussortierten Schalen auf das Deckglas übertragen und jedesmal durch Anhauchen festgeklebt. Die Legeborste kann evtl. mit Bienenwachs etwas klebrig gemacht werden. Das Netzmikrometer dient zur Orientierung. Es erleichtert das Legen von geraden Reihen und die Einhaltung eines gleichmäßigen Abstandes von Schale zu Schale. Für Diatomeen und Silicoflagellaten wird ein relativ dünner Klebgrund benötigt, während Radiolarien und Foraminiferen an einer doppelt so dicken Schicht besser haften. Die Herstellung von Typen- oder Genera-Platten erfordert viel Zeit. Kreispräparate lassen sich schneller anfertigen. Besonders einfach ist die Präparation von Einzelformen. Foraminiferen und Radiolarien kann man auch direkt auf den Objektträger, dickere Arten sogar in die Vertiefung eines Hohl-schliff-Objektträgers kleben, weil sie bei schwacher Vergrößerung betrachtet werden. Wenn die Legearbeit abgeschlossen ist, wird das Deckglas zunächst mit einem Tropfen Xylol bedeckt. Deckgläser mit aufgeklebten Radiolarien oder Foraminiferen werden am besten mehrere Stunden in Xylol gelegt. Auf einen sauberen Objektträger, der auf einer Lackring-Drehscheibe mit einem 2 bis 5 mm weiten Tusching versehen worden ist, gibt man einen Tropfen Einschlußmittel. Das Deckglas wird, kurz bevor das Xylol verdunstet ist, mit der Schichtseite auf den Harztropfen gelegt, der sich sofort bis zum Rand ausbreiten soll. Dann verschiebt man es vorsichtig so lange, bis sich

die Legearbeit genau in der Mitte des Tuschkreises befindet. Anschließend wird das Präparat bei Zimmertemperatur oder 50 bis 60 °C im Wärmeschrank getrocknet. Rohagit verträgt auch Temperaturen bis 100 °C. Das überstehende Harz wird später mit einer Rasierklinge abgekratzt. Dann umrandet man das Deckglas mit einem xylolfesten Lack auf der Lackring-Drehscheibe. Zum Schluß wird es etikettiert. Es gibt nur wenige Einschlußmittel, die sich für die Herstellung von Diatomeen-Präparaten eignen. Naphrax, Hyrax, Pleurax und Clearax sind synthetische Mittel, die neben dem natürlichen Styra in der Literatur empfohlen werden. Die besten Eigenschaften hat jedoch das Aroclor 4465 (vergl. hierzu Mikrokosmos 62, 278, 1973). Sein Brechungsindex ist mit n_D 1,665 ausreichend hoch; es verfärbt sich nicht beim Erhitzen, bleibt duktil und haftet sehr fest am Glas.

Literaturhinweise:

1. Beck, E.: Präparation der recen ten Diatomeen. Mikrokosmos 48, S. 122, 1959.
2. Göke, G.: Einführung in die Präparation der fossilen Diatomeen. Der Aufschluß 9, S. 40, 1958.
3. Göke, G.: Methoden der Mikropaläontologie. Stuttgart 1963.
4. Göke, G.: Meeresprotozoen. Stuttgart 1963.
5. Schrader, H. J.: Diatomeen-legepräparate. Mikrokosmos 50, S. 21, 1961.

Verfasser: Gerhard Göke, D-58 Hagen, Bahnhofstr. 27

Anmerkung (1991): Das von GÖKE 1973 empfohlene AROCLOR wird nicht mehr hergestellt (PCB-Gesetz). Ersatzweise wird NAPHRAX mit einer Brechzahl von etwa 1,70 empfohlen.

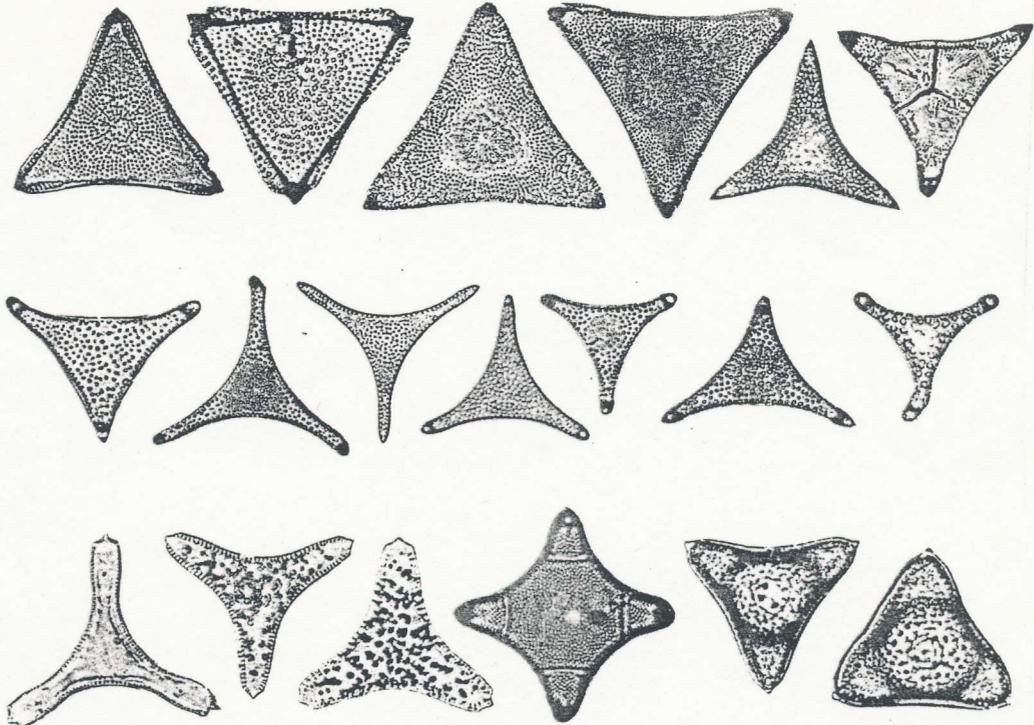


Bild 1: Die fossile Gattung *Trinacria*. Beispiel einer Diatomeen-Generaplatte. Präparator: Verfasser

1. Reihe:

- 1—3. *Trinacria regina* Heib., Untereozän, Kamyschin, UdSSR.
4. *Trinacria regina* Heib., Untereozän 1, Insel Mors, Dänemark.
5. *Trinacria grevillei* Witt, Untereozän, Insa, UdSSR.
6. *Trinacria tristictia* F. F. & S., Oberkreide, Kalifornien.

2. Reihe:

1. *Trinacria excavata* Heib. f. abn., Untereozän, Kamyschin, UdSSR.
2. *Trinacria excavata* Heib., Untereozän 1, Insel Mors, Dänemark.
3. *Trinacria excavata* Heib., Untereozän, Sengilei, UdSSR.

4. *Trinacria excavata* Heib., Obereozän, Oamaru, Neuseeland.

5. *Trinacria excavata* Heib. var. *archangeliskiana* Witt, Paläozän, Archangelsk-Kurojedowo, UdSSR.

6. *Trinacria excavata* Heib., Obereozän, Oamaru, Neuseeland.

7. *Trinacria aries* Witt, Paläozän, Archangelsk-Kurojedowo, UdSSR.

3. Reihe:

1. *Trinacria simulacrum* Gr. & St., Obereozän, Oamaru, Neuseeland.

- 2—3. *Trinacria simulacrum* Gr. & St., var. *grossepunctata* Chen. Untereozän, Kamyschin, UdSSR.

4. *Trinacria exculpta* Heib., Untereozän, Insel Fuur, Dänemark.

- 5—6. *Trinacria ventricosa* Gr. & St., Obereozän, Oamaru, Neuseeland.

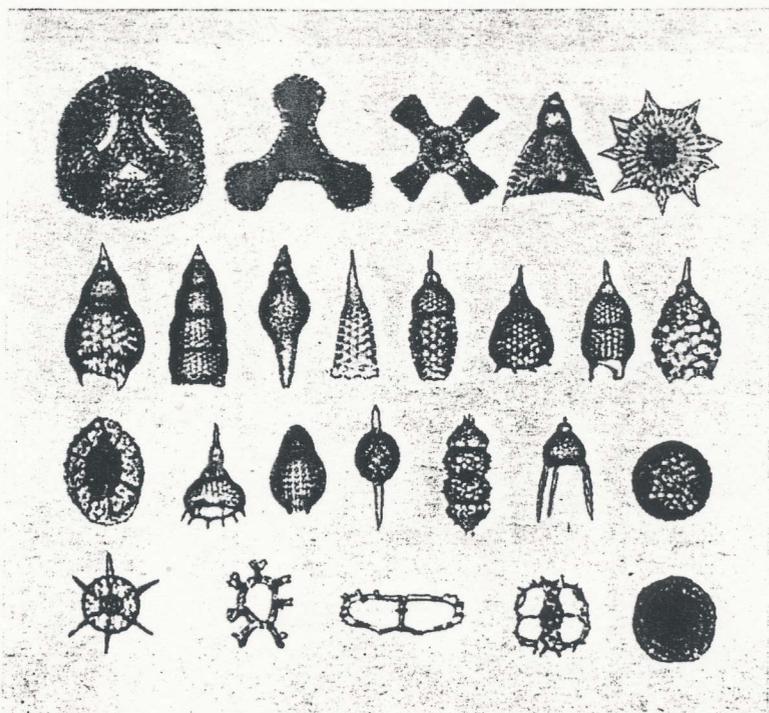


Bild 2: Radiolarien-Typenplatte mit 25 rezenten und fossilen Arten. Präparator: A. Elger