

Methode:

Farbgeatine als Einschlußmittel

Das Niglytin-Verfahren nach Eckert-Lindauer

Literatur:

MIKROKOSMOS 75, 344 - 346 (1986)

Anwendungsbereich:

Präparatesammlungen

Die Mikroskopiker FRANZ ECKERT in Ingolstadt und Dr. RUDOLF LINDAUER in Asch/Böhmen haben in den dreißiger Jahren zahlreiche Präparationsmethoden für Süßwasser- und Meeressalgen beschrieben. Ihre Arbeit „Präparations-Technik der Süßwasser-Algen“ erschien im 11. und 12. Jahrgang der Zeitschrift „Praktische Mikroskopie“ (1933 und 1934). Der Verlag von Julius E. G. Wegner in Winnenden hat 1934 die zusammengefaßte Arbeit auf 86 Seiten als Sonderdruck herausgebracht. Von diesen beiden Autoren stammt das Niglytin-Verfahren, über das ALFRED JENTZEN im MIKROKOSMOS 75, 212-213 (1986) berichtet hat. Auch F. ECKERT und R. LINDAUER haben einige ihrer Methoden im MIKROKOSMOS veröffentlicht. „Das Niglytin-Verfahren nach Eckert-Lindauer“ erschien im MIKROKOSMOS 27, 48-50 (1933/34). Der Beitrag ECKERTS „Wie ich Blaualgen präpariere“ mit Hinweisen auf das Niglytin im MIKROKOSMOS 28, 158-160 (1934/35).

Die Zusammensetzung des Niglytins nach ECKERT-LINDAUER ist nie mitgeteilt worden. Das Einschlußmittel wurde in zwei unterschiedlichen Farbdichten als Niglytin I (für Konjugaten. Ulothrichales, Diatomeen, Cyanophyceen ohne Chroococceen, Florideen und Characeen) und als Niglytin II für alle sehr kleinen Formen allein von der damaligen Firma Dr. K. Hollborn & Söhne in Leipzig hergestellt und vertrieben.

Trotzdem ist die Zusammensetzung dieses ausgezeichneten Einschlußmittels, das zu den Farbgeatinen gehört, nicht ganz unbekannt. Etwa zur gleichen Zeit wie ECKERT-LINDAUER arbeitete Z. ÖRÖSI-PAL in der Zoologischen Anstalt der Universität Debrecen in Ungarn ebenfalls mit Farbgeatinen. Von ihm wurde die Herstellung eines gleichen oder zumindest ähnlichen Mittels 1933 in der „Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie“ (4) mitgeteilt:

1 g Nigrosin und 0,08 bis 0,1 g Tropäolin 00 werden in 42 ml dest. Wasser gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 50 g Glycerin, 0,5 g Phenol und 7 g Gelatine und verfährt im übrigen genau so, als wolle man die bekannte Kaisersche Glycerin-gelatine herstellen. Diese Farbgeatine mit Dunkel-feldwirkung liefert im Präparat eine etwas gelbstichige Grundfärbung. Wenn man die Nigrosinmenge steigert, so wird die Grundfärbung dunkler und mehr violett.

Eine fast schwarze Grundfarbe wird erreicht, wenn man statt 1 g Nigrosin nur 0,7 g zusammen mit 0,3 g Naphtholgrün zusetzt. Möglicherweise enthielt das Niglytin nach ECKERT-LINDAUER nur Nigrosin als farbgebende Substanz. In diesem Zusammenhang möchte ich auf die wohl älteste Methode dieser Art aufmerksam machen,

die von E. NAUMANN 1922 in der „Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie“ beschrieben worden ist (5). Dieser Autor hat die Glycerin-gelatine mit Tusche vermischt. Die Gallertschicht der Myxophyceen erscheint hell auf schwarzem Grund.

Das Niglytin in den beschriebenen Zusammensetzungen eignet sich vorzugsweise für die Darstellung der Gallerthüllen verschiedenster Algen. Es ist aber auch mit Erfolg für andere, z. B. zoologische Objekte verwendet worden. Die große Haltbarkeit der Niglytin-Präparate zeigen die beigefügten Mikroaufnahmen. Deshalb soll nachfolgend die Verarbeitungsvorschrift nach ECKERT-LINDAUER mitgeteilt werden:

1. Algen 3-5 Stunden in Pfeifferschem Gemisch fixieren und bis zum Verschwinden des Essiggeruches mit Wasser auswaschen.
2. 5 bis 10 Stunden in Alizarinviridinlösung färben. Läßt man diese Färbung weg, so treten die Chromatophoren nicht so leuchtend hervor.
3. Gründlich in Wasser auswaschen.
4. Übertragen der Algen in 10%iges Glycerin. Überführung im Exsikkator in konzentriertes Glycerin.
5. In die Mitte eines gut gereinigten Objektträgers bringt man mit einer Lanzett-nadel eine ganz kleine Menge Niglytin und erwärmt *geline* über der Flamme eines Mikrobrenners (besser auf einer Wärmebank), bis es geschmolzen ist.
6. Von dem in dickem Glycerin liegenden Algenmaterial gibt man eine kleine Menge, die möglichst wenig Glycerin enthalten soll (mit Filtrierpapier oder Pipette absaugen), in den flüssigen Niglytintropfen. Man verrührt die Masse gut, aber vorsichtig, damit keine Blasen entstehen. Die Algen sollen nur von einem Niglytinmantel, nicht aber von Glycerin umgeben sein. Gleichzeitig kann man dabei *geline* erwärmen, so daß das Niglytin nicht fest und das Algenmaterial gut durchtränkt wird.
7. Man erfaßt das Deckglas mit einer Pinzette, erwärmt es gut und legt es unter gleichzeitigem Andrücken mit einer Nadel auf den Niglytintropfen. Das Medium soll sich rasch und gleichmäßig ausbreiten.

Anmerkung: Die richtige Abschätzung der benötigten Niglytinmenge erfordert etwas Übung. Sie soll so bemessen sein, daß sie weder unter dem Deckglas hervorquillt noch Luftränder freiläßt. Das Andrücken des Deckglases mit der Nadel - und damit die richtige Einstellung der Schichtdicke - wird am besten bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop durchgeführt.

Ergebnisse: Gallerten und Schleimhüllen treten auf dunklem bis schwarzem Grund leuchtend

grellweiß hervor. Chromatophoren und Kerne erscheinen gleichzeitig strahlend grün. Auch die übrigen Zelleinschlüsse treten gut hervor. Niglytin ist auch für Algen *ohne* Gallerthülle und für viele andere Objekte gut geeignet.

F. ECKERT und R. LINDAUER haben auch eine interessante Doppelfärbung mitgeteilt:

Das mit Pfeifferschem Gemisch fixierte Algenmaterial wird zuerst wie beschrieben mit Alizarinviridin gefärbt, kurz mit dest. Wasser ausgewaschen und dann in eine verdünnte Lösung von Mucikarmin gebracht, die man 2–8 Stunden einwirken läßt. Dann wird der Farbstoffüberschuß mit Wasser ausgewaschen. Der Einschluß erfolgt über 10%iges und konzentriertes Glycerin in Niglytin.

Ergebnis: Chromatophoren und Zellkerne grün, Gallerten und Schleimhüllen leuchtend rot auf schwarzem Grund.

Die Farbgelatine-Verfahren lassen sich vielfältig modifizieren und sind für den Mikroskopiker ein weites Experimentierfeld. Als Beispiel soll hier eine von Z. ÖRÖSI-PAL (4) ausgearbeitete Methode beschrieben werden:

Wenn man bei der Herstellung von Farbgelatine anstelle von Nigrosin Lichtgrün zusetzt, so erhält die Gelatine eine leuchtend grüne Grundfärbung. Zur Unterscheidung von *Nosema*-Sporen und Hefezellen färbt man einen Ausstrich auf dem Objektträger wie üblich mit Safranin. Dann gibt man einen kleinen Tropfen Farbgelatine auf die Schicht, erwärmt gelinde, legt das vorgewärmte Deckglas auf und drückt es mit der Nadel fest an.

Ergebnis: Die Farbe der Hefezellen hat sich von ursprünglich Rot in Violett verändert. Die *Nosema*-Sporen bleiben rot. Die Grundfärbung ist leuchtend grün und kontrastiert die violetten und roten Objekte sehr schön.

Die beschriebenen Farblösungen können fertig gekauft (Chroma) oder selbst hergestellt werden:

Alizarinviridin

5 g Chromalaun $KCr(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ werden im 100 ml dest. Wasser gelöst. Zu der kochenden Lösung gibt man 2 bis 3 g Farbstoff, läßt noch einige Minuten kochen und filtriert nach dem Erkalten. Die Lösung ist dauernd haltbar, sollte aber alle 6 bis 8 Wochen filtriert werden. Man kann sie vor Gebrauch mit Wasser verdünnen.

Mucikarmin

1 g Karmin wird mit 0,5 g Aluminiumchlorid und 2 ml dest. Wasser gemischt und über ganz kleiner Flamme erhitzt. Das Gemisch wird dabei dunkel. Dann setzt man unter Umrühren 100 ml 50%igen Alkohol (Äthanol) zu. Diese haltbare Stammlösung wird vor Gebrauch 1:9 mit Wasser verdünnt.

Literaturhinweise:

1. ECKERT, F. u. LINDAUER, R.: Präparations-Technik der Süßwasser-Algen. Sonderdruck aus „Praktische Mikroskopie“, XI. und XII. Jahrgang 1933 und 1934, Winnenden-Stuttgart 1934.
2. ECKERT, F.: Das Niglytinverfahren nach Eckert-Lindauer. MIKROKOSMOS 27, 48–50 (1933/34).
3. ECKERT, F.: Wie ich Blaualgen präpariere. MIKROKOSMOS 28, 158–160 (1934/35).

4. ÖRÖSI-PAL, Z.: Farbgelatine, ein Färb- und Einschlußmittel für mikroskopische Präparate. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 50, 438–440 (1933).

5. NÄUMANN, E.: Über die Dauerpräparation von kontrastgefärbten Algengallerten. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 39 (1922).

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5800 Hagen

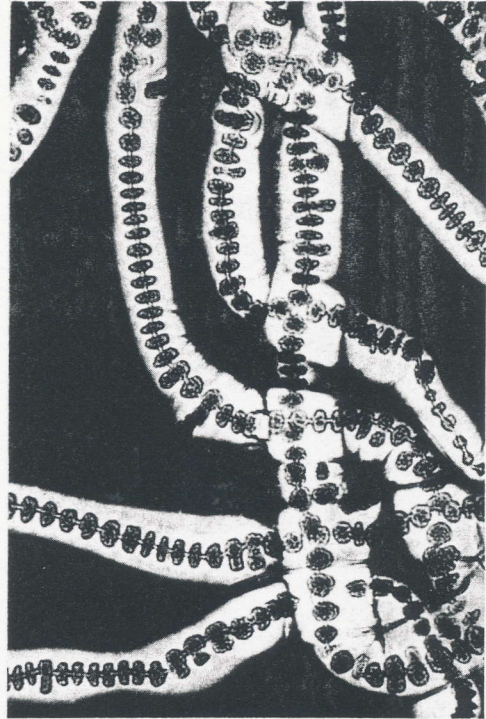


Bild 1: Blaualge *Stigonema ocellatum*, gefärbt mit Alizarinviridin, Einschluß in Niglytin nach ECKERT-LINDAUER. Präparat: FRANZ ECKERT 1934. Foto: GERHARD GÖKE 1980. Achromat $10 \times / 0,24$. Projektiv $12,5 \times$, Film Agfachrome 50 S.



Bild 2: Faden-Jochalge *Zygnema cruciatum*, gefärbt mit Alizarinviridin, Einschluß in Niglytin nach ECKERT-LINDAUER. Präparat: FRANZ ECKERT 1934. Foto: GERHARD GÖKE 1980. Achromat $10 \times / 0,24$. Projektiv $12,5 \times$, Film Agfachrome 50 S.