

lungsmöglichkeiten der Normalbauweise sind nämlich recht groß. Das ist bei den vielfältigen Anforderungen, die spezielle Konstruktionen an die kutikulare Hülle stellen, auch nicht anders zu erwarten. Aber gerade die nähere Untersuchung auf den ersten Blick sehr abweichend gestalteter Teilstücke wird immer wieder die Tatsache bestätigen, daß auch hier das Ziel durch meist verhältnismäßig geringe Änderungen in der Bauausführung erreicht worden ist und daß der allgemeine Grundbauplan seine Gültigkeit keineswegs verloren hat.

Die bedeutungsvolle Frage nach den tieferen Ursachen der unterschiedlichen Ausrichtung aufeinanderfolgender Faserlagen hat zu gegensätzlichen Ansichten geführt. Während die einen glauben, es handele sich um ein physiologisches Pro-

blem, um eine gesteuerte Fähigkeit der Hypodermiszellen, selbst diesen Wechsel hervorzurufen, sehen andere darin ein mechanisches Problem, nämlich die Einwirkung von Dehnungs- und Zugkräften auf frisch abgegliederte kutikulare Flächen.

Nur wenig ist, was hier über die Kutikula der Insekten gesagt werden konnte. Für denjenigen, der sich näher mit kutikularen Strukturen befassen möchte, bietet die Artenfülle der Insekten unerschöpfliches Material. Viele Probleme, im Grundsätzlichen wie im Einzelnen, gilt es auf diesem Gebiet noch einer Lösung näherzubringen.

Literatur

1. Richards, A. G.: The integument of Arthropods. Minnesota 1951. Darin umfassende Zusammenstellung der bislang erschienenen Arbeiten über Chitin und Kutikula.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Die Zieralge Closterium

Von Herbert Schaden, Wien

Die Desmidiaceen oder Zieralgen, welche neben den Diatomeen zu den zierlichsten und schönsten mikroskopischen Lebensformen zählen, sind in mehr als 2000 Arten über die ganze Erde verbreitet.

Die symmetrisch angeordneten Zellhälften der Desmidiaceen sind meist durch eine mehr oder weniger tiefe Einschnürung voneinander geschieden. Als Mitglieder der Litoralflora finden wir sie im klaren kalkfreien Wasser der Tümpel und Teiche, in Gräben und Pfützen, aber auch in Quellen, wo sie besonders dort auftreten, wo Wasserpflanzen, Fadenalgen und Wassermoos vorhanden sind. Die Gewässer der Hochmoore, Torfsümpfe usw. sind wegen ihres Formenreichtums besonders ergiebige Fundorte. Um sie zu erbeuten — Frühjahr und Herbst sind die geeignetsten Zeiten — ist es notwendig, sich über ihr Vorkommen in einem bestimmten Gewässer zu orientieren. Sie sind nämlich sehr ungleich verteilt. Mit einer starken Lupe oder einem kleinen Exkursionsmikroskop ausgerüstet, wird die Uferzone an den verschiedensten nicht zu weit auseinanderliegenden Stellen gründlich abgesucht. Der Ablauf ausgedrückter Wasserpflanzen bzw. in Gewässern ohne Vegetation das durch sorgfältiges Abkratzen des Grundes gewonnene Material wird in einem Planktonnetz gesammelt und mit etwas Wasser in Sammelgläser gefüllt. Im Laboratorium wird unsere Ausbeute sofort in große Kristallisierschalen gebracht, einige Zentimeter Wasser aufgefüllt, Deckscheiben aufgelegt und an einem kühlen, vor direktem Sonnenlicht geschützten Ort aufbewahrt.

An *Closterium moniliferum*, einer besonders verbreiteten Art, wollen wir nun Entwicklung und Organisation, die bei allen Arten sehr ähnlich sind, näher kennenlernen.

Im Innern der halbmondförmig gekrümmten, glattwandigen *Closterium*-zelle beobachten wir zwei meist mit 10 Längsrippen ausgestattete Chlorophyllkörper (Chromatophoren), in deren Längsachse deutlich sichtbare Pyrenoide angeordnet liegen. Letztere sind, der Jahreszeit entsprechend, schwächer oder stärker von Stärkekörnern umgeben. Außer diesen sind auch in der Oberfläche der Chromatophoren kleine Stärkekörner eingelagert, wie durch Zusatz von verdünnter Jodlösung leicht nachgewiesen werden kann. Die Zelle selbst ist von farblosem Zytoplasma erfüllt, das die beiden Chromatophoren umgibt und in der äquatorialen Zone den mit großen Kernkörperchen versehenen Kern einschließt. In den beiden Zellenden beobachten wir je eine runde, verhältnismäßig große, mit wässrigem Zellsaft gefüllte Vakuole, in der eine Anzahl kleiner, in Schwefelsäure unlöslicher Gipskristalle in ständiger zitternder Bewegung ist. Diese Bewegung ist zum Teil eine molekulare (Brownsche Bewegung). Werden die Kristalle durch Zerstörung der Zelle befreit (Quetschung), so wird ihre charakteristische prismatische Gestalt bei starker Vergrößerung (Ölimmersion) erkennbar.

Die Zellwand von *Closterium moniliferum* besteht aus zwei im Äquator zusammentreffenden Schalenhälften, welche

durch Behandlung mit Alkalien oder durch Fäulnis trennbar sind. Sie ist, wie nähere Untersuchung lehrt, aus zwei Schichten aufgebaut, von denen die innere aus reiner Zellulose besteht, während die äußere noch andere Stoffe eingelagert enthält. Nach Chlorzinkjod-Behandlung (Zinkchlorid 20, Kaliumjodid 6,5, Jod 1,3, Wasser 10,5) zeigt die Innenschicht rötlich-violette Färbung, während Schwefelwasserstoff-Wasser eine Schwarzfärbung der Außenschicht bewirkt. Wie bei den meisten Desmidiaceen, so kann auch bei *Closterium moniliferum* eine deutliche *Eigenbewegung* beobachtet werden. Sie kommt dadurch zustande, daß durch besondere an den beiden Zellenden befindliche Poren ein an der Unterlage festhaftender Gallertfaden ausgestoßen wird. Durch Zusatz einer sehr verdünnten

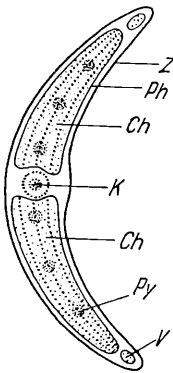


Abb. 1: *Closterium moniliferum*. Z = Zellulosemembran, CH = Chromatophor, K = Kern, PY = Pyrenoide, V = Vakuole, PH = Plasmahaut. — Nach Vorlage des Verf. gez. von H. Lauffer

Methylviolettlösung kann diese Gallertbildung direkt sichtbar gemacht werden. Neben der gleitenden Bewegung, bei der das eine Ende der Zelle den Boden berührt, und einem Sicherheben über das Substrat, zeigt *Closterium moniliferum* unter Umständen auch Querstellung, bei der beide Enden auf der Unterlage aufliegen. Freies Schwimmen konnte bei den Desmidiaceen bisher nicht nachgewiesen werden. Durch verschiedene äußere Reize, vor allem durch das Licht, wird nun die Bewegung in bestimmter Weise beeinflusst. Um dies festzustellen, werden Closterien in einer Glaskammer bei schwacher Vergrößerung und abgestelltem Spiegel in diffusum Tageslicht untersucht. Bereits nach kurzer Zeit ist die Längsachse der meisten Individuen in Richtung des einfallenden Lichtes orientiert, wobei das von der Lichtquelle (Fenster) abgekehrte Zellende dem Gefäßboden aufsitzt. Nach einer Drehung des Objektisches um zirka 180°, bei der jegliche Er-

schütterung vermieden werden muß, haben sich die Closterien um ihren Stützpunkt gedreht und in die nunmehrige Lichtrichtung eingestellt. Bald darauf kann man beobachten, wie sich das freie Zellende langsam abwärts neigt und den Boden des Gefäßes berührt, während das vorher feststehende Ende sich von der Unterlage abhebt und der Lichtquelle zuwendet. Nach 5 bis 35 Minuten wiederholt sich dieser Vorgang und so wandern die Closterien, sich ständig überschlagend, langsam der Lichtquelle zu. Lassen wir nun intensiveres Licht einwirken, so drehen sich die einzelnen Individuen um ihren Stützpunkt, wobei sie jene Lage beibehalten, bei der ihre Längsachse von den einfallenden Lichtstrahlen senkrecht getroffen wird. Diese Querstellung finden wir auch bei direktem Sonnenlicht, jedoch sehen wir hier bereits einzelne Individuen, welche die konvexe Seite zur Lichtquelle gewandt, langsam von dieser fortgleiten. Die Eigenbewegungen von *Closterium moniliferum* werden somit nicht nur vom Lichteinfall, sondern auch von der Lichtintensität bestimmt.

Die Vermehrung von *Closterium moniliferum* erfolgt auf geschlechtlichem und ungeschlechtlichem Wege. Während die geschlechtliche Vermehrung (Kopulation) erst in den Monaten Juli und August vor sich geht, kann die ungeschlechtliche Fortpflanzung fast das ganze Jahr hindurch, von Frühjahr bis Herbst, beobachtet werden. Letztere erfolgt durch Zweiteilung, wobei an der Einschnürungsstelle (Ringfurche) die Schalenhälften auseinanderweichen und durch Ergänzungswachstum je eine neue Zellhälfte ausgebildet wird. Dieser Vorgang beginnt bereits in den frühen Morgenstunden (1 bis 4 Uhr) mit einem Dehnungsprozeß des Kernes, wobei sich die Chromosomen im Kerninnern äquatorial anordnen. Die Trennung ist verhältnismäßig schnell vollzogen, in den beiden Tochterkernen erfolgt wieder die Vereinigung der Chromosomen zum Ruhekern. Die beiden Tochterkerne wandern zur Äquatorialzone der Tochterzellen. Gleichzeitig beobachten wir eine Einschnürung der Chromatophoren und eine am Isthmus der Zelle entstehende, aus Protoplasma-Absonderung gebildete Querbinde mit Ringfurche. Hierdurch wird die Teilung der Mutterzelle bewirkt. Nun erweitert sich die Ringfurche, während sich die beiden Kerne in gleichem Maße der Abschnürungsstelle der Chromatophoren nähern. Hat der Kern die Zellmitte erreicht, kann nun auch die Entstehung von primären Plasmahäutchen beobachtet werden, welche aus der Ringfurche gebildet, die beiden Tochterzellen miteinander verbinden. Nun nähern sich die Zellen durch intensives Wachstum immer mehr der ur-

spränglichen Gestalt. Der Kern wandert dem Isthmus zu und unter den primären Plasmahäuten wird auch die Ergänzung der Zellulosemembran sichtbar. Schließlich treten zwischen Plasmahaut und Zellulosemembran wieder die Gipskriställchen auf. Nach Ausbildung der Außenhaut wird die primäre Plasmahaut abgestoßen und die Trennung der Tochterzellen vollzogen. Sind die Zellen vollständig ausgebildet, werden in den neuen Zellhälften die Vakuolen neugebildet.

Bei der geschlechtlichen Fortpflanzung legen sich zwei Zellen aneinander und umgeben sich mit einer gemeinsamen weichen Gallerte. Nun wird der Isthmus aufgesprengt und die beiden Zellinhalte vereinigen sich durch den gebildeten Kopulationskanal zur ellipsoiden Zygote (Zygospore), um welche sich eine glatte, dreischichtige Membran bildet. Nach einer Ruhezeit keimt die Zygote im Frühjahr aus.

Bestimmungsmerkmale für *Closterium moniliferum*:

Zellen 222–370 μ lang und 33–50 μ breit, mäßig halbmondförmig gebogen, in der Mitte der Bauchseite deutlich aufgetrieben und nach den stumpf abgerundeten Enden gleichmäßig verjüngt. Chromatophoren mit 5–6 Furchen und 6–7 in einer Reihe liegenden Pyrenoiden. Zygosporen ellipsoidisch, glatt, mit Schleimmantel.

Kultur- und Präparationstechnik

Desmidiaceen werden in zirka 0.2%iger Knopscher Nährlösung kultiviert. Zu deren Zubereitung werden 0.1 g Calciumnitrat krist., 0.025 g Kaliumchlorid, 0.025 g Magnesiumsulfat und 0.025 g Kaliummonophosphat in je 20 ccm selbst hergestelltem dest. Wasser (Jenaer Glas) gelöst, in der angegebenen Reihenfolge zusammengegossen und mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Eventuell auftretende Niederschläge (Ca- und Mg-Phosphat) dürfen nicht abfiltriert werden. Schließlich wird ein Tropfen einer einprozentigen Eisenchloridlösung zugesetzt und sterilisiert. Als Kulturgefäße können Porzellanschalen oder große Kristallisierschalen (mit Papier umhüllen, Seitenlicht!) verwendet werden. Zur Anlage der Kultur werden nun aus einer Wasser- oder Schlammprobe mit Hilfe einer Spemannschen Pipette (mit der Gummikappe werden 1–2 ccm Flüssigkeit angesaugt, das kapillare Ende der aufzunehmenden Zelle genähert und durch leichten Druck auf die Gummimembran etwas Flüssigkeit verdrängt; wird der Druck aufgehoben, so wird die gewünschte Zelle mit einer äquivalenten Flüssigkeitsmenge eingesogen) mehrere Desmidiaceen isoliert, in eine mit steriler Nährlösung beschickte Kulturschale überführt, mit einer Glas-

scheibe zugedeckt und an einem kühlen, schattigen Ort aufbewahrt. Um ein Überwuchern der Kulturen durch andere Algen zu vermeiden, müssen die Desmidiaceen alle 4–5 Wochen in neue Nährlösung umgesetzt werden. Um Zygosporenbildung zu erzielen, ist die vorher schattig gehaltene Kultur stärker zu belichten; ebenso kann der Zusatz von 5 Prozent Rohrzucker oder 2 Prozent Maltose günstig wirken.

Dauerpräparate

Zur Herstellung von Dauerpräparaten muß zunächst eine Reinigung des Materials vorgenommen werden. Unter einem Präpariermikroskop werden die einzelnen Formen mit einer Spemannschen Mikropipette aufgenommen, auf einen mit wenig destilliertem Wasser beschickten Objektträger übertragen und etwa vorhandene Verunreinigungen mit einer Haarschlinge entfernt. Nun wird in Formalindämpfen fixiert (1–2 Stunden), verdünntes Glyze-

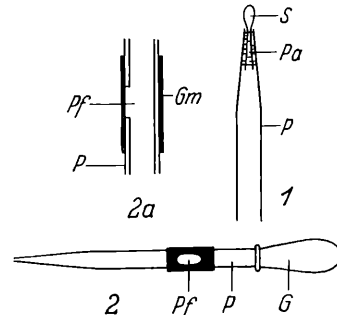


Abb. 2: Spemannsche Haarschlinge. P = Pipette, PA = Paraffin, S = Haarschlinge. 2 u. 2a — Mikropipette nach Spemann. G = Gummihütchen, P = Pipette, GM = Gummimembran, PF = Pipettenfenster. — Nach Vorlage des Verf. gez. von H. Lauffer

rin zugesetzt und nach dem Eindicken im Exsikkator in Lactophenol-Gelatine eingeschlossen (7 g reine Gelatine werden in 35 ccm warmen dest. Wasser erweicht, auf dem Wasserbad aufgelöst, 45 ccm Glycerin pur. und 12 ccm Lactophenol unter Umrühren zugesetzt und heiß durch Glaswolle filtriert — Lactophenol: 20 g Phenol krist., 20 g Acid. lacticum spez. Gew. 1.21, 40 g Glycerin puriss. spez. Gew. 1.25, 20 g Aqua dest., jahrelang haltbar). In Lactophenol-Gelatine bleiben die natürlichen Chlorophyllfarbstoffe erhalten. Bereits nach 5–6 Tagen kann mit Japanlack ein Verschlußring gezogen werden.

Schematische Übersicht

1. Fixieren in Formalindämpfen, 1–2 Stunden;
2. 15%iges Glycerin, Eindicken im Exsikkator;
3. Einbetten in Lactophenol-Gelatine;
4. Japanlack-Verschluß.

Um alle anatomisch-cytologischen Vorgänge in der Algenzelle im Dauerpräparat festzuhalten, verwenden wir eine von Eckert speziell für Konjugaten entwickelte Präparationsmethode, die bei sorgfältiger Arbeit zu den besten Ergebnissen führt.

Zur Vorfixierung wird das möglichst konzentrierte Material mit Flemmings Chromessigsäure (70 ccm 1%ige Chromsäure, 90 ccm dest. Wasser, 5 ccm Eisessig; lange haltbar) bis zur vollständigen Bleichung der Farbstoffe behandelt (3—10 Stunden). Dann wird gründlich gewässert (10—20 Min.), in Sublimatessig 24—48 Stunden nachfixiert (7 g Sublimat werden heiß in 100 ccm dest. Wasser gelöst und nach dem Erkalten 5 ccm Eisessig zugesetzt. Vorsicht, sehr giftig! Metalle dürfen mit Sublimatlösungen nicht in Berührung gebracht werden!), kurz mit destilliertem Wasser ausgewaschen und in Jodalkohol überführt. Nun wird unter Umrühren so lange tropfenweise Lugolsche Lösung zugesetzt (2 g Jodkalium wird in 300 ccm dest. Wasser gelöst und 1 g Jod zugefügt), bis keine Entfärbung mehr eintritt. Darauf wird in 30%igem Alkohol ausgewaschen (2—3mal wechseln), in destilliertes Wasser überführt (mehrmals wechseln) und zur Beseitigung der Jodreste in 2½%ige Natriumthiosulfatlösung übertragen (10—20 Minuten). Schließlich wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und — wenn nicht sofort gefärbt werden soll — in 20%igem Alkohol aufbewahrt.

Zur Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain wird das Material zunächst ½—1 Stunde in einer 1½%igen Eisenalaunlösung gebeizt, kurz mit destilliertem Wasser abgespült und auf etwa

2 Stunden in eine Hämatoxylinlösung gebracht (in 10 ccm 96%igem Alkohol wird 1 g Hämatoxylin gelöst, 90 ccm dest. Wasser zugesetzt, nach vierwöchiger Reife noch 100 ccm dest. Wasser zugegeben und filtriert; haltbar). Dann wird in dest. Wasser ausgewaschen, mit Eisenalaunlösung differenziert (Mikroskop), abermals in destilliertem Wasser ausgewaschen, in 10%iges Glycerin übertragen und im Exsikkator eingedickt. Anschließend wird mit 96%igem Alkohol gründlich ausgewaschen (3—5mal wechseln) und einige Tropfen einer kaltesättigten Lösung von neutralem Eisenchlorid in 96%igem Alkohol zugesetzt. Nach 24 Stunden gießt man diese Beize ab und wäscht mit reinem 96%igem Alkohol, bis die gelbe Färbung ausgezogen ist. Nun wird in Echtgrünlösung überführt (1—2 Teile Alkohol und 1 Teil Echtgrün-Stamm-lösung), nach einiger Zeit noch etwas Farb-lösung zugesetzt und bei auftretender Grünfärbung (Eisenchlorid!) durch neue Echtgrünlösung ersetzt. Nach ausreichender Färbung (3—5 Stunden) wird mit mehrfach zu wechselndem Isopropylalkohol ausgewaschen, dann auf etwa 5 Stunden in reinen Isopropylalkohol überführt (3—5mal wechseln), ebenso mit Xylol behandelt und in eine 10—20%ige Xylolbalsamlösung übertragen. Diese wird an einem staubfreien, warmen Ort bis zur ursprünglichen Konsistenz des Harzes eingedickt, das Material auf einen Objektträger übertragen und in Kanadabalsam eingeschlossen. Bei gelungener Färbung sind die einzelnen Zellbestandteile klar differenziert, wobei die Membran hellgrün, Kernbestandteile schwarzblau, Pyrenoide und Chromatophoren dunkelgrün erscheinen.

Winke fürs Labor

Ein weiterer Beitrag zur Frage der Verhinderung elektrostatischer Aufladungen am Mikrotom

Von Dr. H. Wilhelm Lücking, Köln

Die Herstellung dünnster Schnitte mit dem Mikrotom wird oft durch das Auftreten elektrischer Ladungen sehr erschwert. Infolge der dann vorhandenen Anziehungs- oder Abstößungskräfte können die Schnitte die eigenwilligsten Bewegungen ausführen; sie rollen sich zusammen, kleben am Messer oder zerreißen, so daß jede Herstellung von Serienschnitten unmöglich wird.

In Mikrokosmos 44, 95—96, 1955 gibt Dr. H. F. Linskens eine elegante Methode an, wie solche störenden Aufladungen durch Ionisierung der Luft mittels einer radioaktive Substanz enthaltenden Ionotron-Folie T 200 verhindert werden können.

Steht diese Spezialfolie nicht zur Verfügung, so kann man eine Aufspaltung der

Luftmoleküle in Ionen auch dadurch auf sehr einfache und doch recht wirksame Weise erreichen, daß man in einem geschlossenen Zimmer mehrere Bunsenbrenner brennen läßt. Infolge der hohen Temperaturen in der Flamme tritt eine thermische Dissoziation ein, d. h. die Moleküle der Luft und vor allem auch der Flammengase zerfallen in positiv und negativ geladene Ionen. Diese bleiben auch noch nach ihrer Abkühlung längere Zeit bestehen, ehe sie durch Rekombination sich wieder zu nach außen ungeladenen Molekülen zurückbilden. Kommen die Ionen während ihrer Lebensdauer mit anderen elektrischen Ladungen zusammen, so findet natürlich schon hier ein Ladungsausgleich statt. Je-