

MICROSCOPISCHE PREPARATEN VAN CHITINEUZE LICHAAMSDEELEN VAN INSECTEN

door

Dr. C. J. H. Franssen.

Inleiding.

Bij insecten worden de morphologische kenmerken tot nog toe bijna uitsluitend ontleend aan het chitine-scelet. Het is dus voor den systematicus zaak het chitine-pantser in een dusdanigen toestand te brengen, dat alle structuur-, beharingskenmerken enz. goed zichtbaar zijn en dus gemakkelijk bestudeerd kunnen worden. Groote insecten leenen zich meestal zonder meer voor systematisch werk en kunnen met opvallend licht met behulp van een binoculair bekeken worden, doch kleinere insecten moeten meestal volgens speciale methodes behandeld worden alvorens ze geschikt zijn voor morphologisch onderzoek. De algemeene werkmethode komt hier op neer, dat de chitine van de zachte deelen ontdaan wordt, vervolgens wordt ingesloten in stoffen van bepaalde samenstelling en dan bestudeerd kan worden met doorrvallend licht. Ofschoon een dergelijke werkwijze zeer voor de hand liggend is, werden voor een twintigtal jaren geleden de kleinere insecten bijna steeds ingesloten zonder voorafgaande verwijdering der zachte deelen: tegenwoordig wordt deze werkwijze nog gevolgd in Engeland en Amerika. Aanvankelijk werd er gemacereerd met verdunde kaliloog, o.a. door Green en Newstead, doch deze stof doet de objecten in hooge mate schrompelen en tast de chitine aan. Het is de groote verdienste van onzen landgenoot van der Goot geweest in 1912 van de kaliloog-methode af te stappen en te macereeren met chloralphenol (voor bereidingswijze zie later), hetwelk de chitineuze deelen niet aantast. Ofschoon de werkwijze van van der Goot technisch nog niet volmaakt te noemen en overigens zeer tijdroovend was, kon hij tal van kenmerken bij de Aphiden bestudeeren en vastleggen, welke andere systematici vóór hem nog niet gezien hadden. In deze publicatie wil schrijver dezes zijn eigen methodes en ervaringen, welke de laatste 6 jaren werden opgedaan, beschrijven, opdat ook anderen daarvan kunnen profiteren. Er dient echter wel in het oog te worden gehouden, dat onderstaande gegevens niet betrekking hebben op de microtoomtechniek.

Insluitmiddelen.

Microscopische objecten worden ingesloten in middelen, die niet alleen conserveerend werken, doch tevens de lichtsterkte zoo weinig mogelijk verminderen, hetgeen bereikt wordt als de brekingsindex van het insluitmiddel zooveel mogelijk overeenkomt met dien van het glas van voorwerp en dekglas. Eenige insluitmiddelen met hun voor- en nadeelen worden hieronder besproken:

A. Canada-balsem. Dit is een licht geel gekleurde hars, welke gewonnen wordt uit de stammen van drie in Noord-Amerika groeiende den-

nen, nml. *Abies balsamea*, *Abies Fraseri* en *Abies Canadensis*. De handels-canada-balsem is vast of taai vloeibaar en wordt daarom vóór het gebruik verdund. Het meest gebruikelijke en beste verdunningsmiddel is xylol, minder gebruikelijk zijn o.a. chloroform of terpentijn. Hoewel vroeger bijna alle entomologen canada-balsem gebruikten en het middel thans nog veel toepassing vindt, moet het toch in de meeste gevallen worden afgeraden om er lichaamsdeelen of geheele insecten mee in te sluiten, omdat er thans betere insluitmiddelen bekend zijn.

De nadeelen van de xylol zijn namelijk, dat:

1ste. Het een weinig schrompelend werkt.

2de. De fijne haartjes en andere chitineuze kenmerken na verloop van tijd niet meer zichtbaar zijn.

3de. Met een zeer gering spoor water er een troebele emulsie ontstaat, welke de waarneming in meerdere of mindere mate schaadt.

De canada-balsem zelve geeft het object op den duur een gele kleur, hetgeen in de meeste gevallen wel geen overwegend bezwaar zal zijn. Gebruikt in dikke lagen kan deze gele kleur echter een bezwaar vormen.

Voordat het object met de xylol in aanraking gebracht wordt, via welke stof het gewoonlijk in de canada-balsem wordt ingesloten, moet het op de gebruikelijke wijze ontwaterd worden, hetgeen een zeer omslachtige werkwijze is en voor personen, welke niet aan laboratoria en dus niet over gratisgebruik van alcohol beschikken, een dure geschiedenis is.

Chitineuze met kaliloog behandelde objecten, welke in alcohol ontwaterd zijn, hebben neiging om te breken of te scheuren in de xylol. Daarom worden dergelijke voorwerpen via kruidnagel-olie, welke deze eigenschap in mindere mate bezit, in den balsem ingesloten.

Als de druppel canada-balsem op het objectglas gebracht is, moet vermeden worden, dat ze met den vochtigen adem in aanraking komt, daar zulks reeds voldoende is om troebeling te veroorzaken, waardoor de latere waarneming van het object geschaad wordt.

De vluchtige zuren in de canada-balsem, welke ontkleurend werken op gekleurde objecten, kunnen weggenomen worden door ze in een open flesch te bewaren op een zacht verwarmde plaats, of in de tropen in een trommel met kalk. Het preparaat kan omrand worden met murragite, hetwelk te verkrijgen is bij Flatters and Garnett te Manchester en verdund wordt met benzol, of met de zeer goedkope witte barnsteenlak.

B. Euparal. Dit is een mengsel van verschillende harsen, nl. camsal-balsem, sandarak, eucalyptol en paraldehyde.

De voorwerpen kunnen in euparal worden ingesloten uit alcohol van 96 %, aceton, waarmede de euparal ook verdund wordt, en na een spoeling van eenige minuten met aceton uit phenolum liquefactum. Uit aceton ingesloten objecten vertoonen vaak een witte troebeling, welke troebeling echter na enkele dagen weer verdwijnt.

Euparal, hetwelk geleverd wordt door de firma

Flatters and Garnett te Manchester, doet vooral teere en ook gemacereerde voorwerpen schrompelen, doch deze schrompeling kan opgeheven worden door het voorwerp te brengen in alcohol van 70 %, vervolgens in isobutyl-alcohol, en daarna via een mengsel van eucalyptol (9 cm^3) plus paraldehyde (7 cm^3) als tusschenvloeistof *) in euparal in te sluiten. Bezwaren voor de euparal zijn, dat ze een min of meer bedwelmenden reuk verspreidt, welke op den duur zeer hinderlijk is, en voorts dat de fijne haartjes later moeilijk kunnen worden waargenomen.

Het preparaat kan omrand worden met canada-balsem, murragite of witte barnsteenlak.

C. Berlese. Het insluitmiddel van Berlese bestaat uit 20 cc water, 160 gram chloral-hydraat, 15 gram gummi-arabicum, 10 gram glycosesiroop en 5 gram ysazijn. De samenstelling werd later gewijzigd door F a u r e. Dit gewijzigd recept heeft den laatsten tijd veel opgang gemaakt wegens zijn buitengewoon goede resultaten. Het heeft de volgende samenstelling: 12 gram zuivere witte gummi-arabicum, 20 gram water, 16 gram of 13 cc geconcentreerd glycerine en 20 gram chloralhydraat. Indien in deze publicatie over berlese gesproken wordt, is daarmede steeds het door F a u r e gewijzigde recept bedoeld. In berlese kunnen de fijnste chitineuze kenmerken zooals fijne haartjes blijvend goed worden waargenomen. Berlese werkt bijna nimmer schrompelend. Een gering nadeel is echter dat het ontkleurend werkt op de ingesloten objecten. De voorwerpen worden liefst via water ingesloten.

De preparaten mogen pas omrand worden, nadat de berlese hard geworden is, hetgeen geschiedt door ze 2 maanden te laten liggen op een droge plaats of in de tropen 3 weken in een kalktrommel. Zoodra ze voldoende droog zijn, worden ze omrand met canada-balsem of murragite.

D. Glycerine. Deze stof is door zijn brekingsindex ook een geschikt insluitmiddel. De voorwerpen kunnen uit alcohol, doch worden liefst uit water, waarin ze desnoods worden teruggevoerd, in het insluitmiddel overgebracht. Daarbij wordt een mengsel van glycerine en water in gelijke verhouding ingeschakeld. Glycerine is een geschikt insluitmiddel voor gekleurde objecten, welke niet meer met alcohol in aanraking mogen komen. Voorts is het zeer geschikt voor kleine hymenopteren en nematoden.

Het groote bezwaar van glycerine is, dat de preparaten oop den duur droog komen te staan.

De preparaten worden omrand als volgt: Laat een flinke hoeveelheid glycerine onder het dekglasje te voorschijn komen; hierop wordt tragacanthapoeder gestrooid, hetwelk na eenige dagen met de glycerine buiten het dekglasje een half weeke kit vormt. Nadat de randen met een scherp

mes zijn bijgesneden, wordt de kit bedekt met een dun laagje gesmolten was.

Omranden met canada-balsem is ook mogelijk, doch er mag dan geen glycerine onder het dekglasje te voorschijn komen, zoodat canada-balsem niet in aanmerking komt bij dikkere preparaten.

E. Glycerine-agar-agar. Het middel wordt vervaardigd als volgt: 0,4 gram agar-agar wordt geweekt in 18 cc water. Na oplossing van de agar-agar wordt 21 cc glycerine toegevoegd en een spoortje carbolzuur. Nu wordt de vloeistof zacht verwarmd en gedurende 1 kwartier omgeroerd, waarna gefiltreerd in een warm oventje. Het groote bezwaar van dit middel is, dat het objectglas op een speciaal daarvoor geconstrueerd toestelletje verwarmd moet worden om het insluitmiddel tijdens het inbrengen van de objecten vloeibaar te houden. Een ander bezwaar is, dat de voorwerpen schrompelen en het middel ontkleurend werkt. De preparaten worden omrand met canada-balsem of murragite.

F. Dammerhars. De hars wordt gewonnen van de in Nederlandsch Oost-Indië inheemsche dammerboom (*Agathis alba*). Ze wordt op dezelfde wijze verdund als canada-balsem, terwijl ook het insluiten der voorwerpen precies op de wijze geschiedt als beschreven bij canada-balsem. Overigens heeft het gebruik van dammerhars dezelfde bezwaren als van canada-balsem. Een gering voordeel boven deze laatste stof is, dat ze veel lichter is van kleur en dus in dikke lagen niet hinderlijk is.

Conclusies: Hoewel berlese en euparal de twee beste insluitmiddelen zijn, prefereert schrijver dezes toch berlese boven euparal, omdat:

- 1ste. Berlese niet schrompelend werkt.
- 2de. Toevallig in het object aanwezige lucht in de berlese oplost.
- 3de. De brekingsindex van de berlese beter is, waardoor de allerfijnste haren op den duur toch nog goed kunnen worden waargenomen.
- 4de. De niet volledig gemacereerde voorwerpen op den duur nog helder worden onder invloed van het in de berlese aanwezige chloralhydraat.
- 5de. Berlese geen onaangename en hinderlijke reuk verspreidt.
- 6de. Berlese goedkoop is en door iedereen gemaakt kan worden.

(Wordt vervolgd).

BERICHTIGUNG

zu † Dr. J. J. A. Bernsen O. F. M. Eine Revision der fossilen Säugetierfauna aus den Tonen von Tegelen. VIII (in Nr. 6 dieses Jahrgangs).

In der Erklärung der Figuren (Seite 81) muss es heissen:

3. Rezente *Hystrix cristata* L. Zool. Museum, Amsterdam. *Distales Ende des Humerus dexter*. A: Vorderseite. B: Hinterseite.

4. *Hystrix cf. etrusca* Bosco von Tegelen. Naturhistorisch Museum, Maastricht. *Proximales Ende der Ulna dextra*. A: Vorderseite. B: Auszenseite. Red.

*) Dit middel om de schrompeling op te heffen werd schrijver dezes met groote welwillendheid medegedeeld door Dr. H. Schmitz S. J., aan wien ik bovendien dank verschuldigd ben voor eenige inlichtingen over het nog hieronder te bespreken dammerhars.