

# Alternative Methode zur manuellen Fixierung von flüssigkonservierten Arthropoden für die makroskopisch-fotografische Dokumentation

von Andreas Haselböck, Anne-Kristin Schilling, Ingo Wendt und Joachim Holstein

## Einleitung

---

Die Montage flüssigkonservierter Arthropoden zur fotografischen Dokumentation oder makroskopischen Untersuchung birgt oft Schwierigkeiten. Belässt man die Präparate im Alkohol, können durch Verdunstung Konvektionsströme entstehen, die das Objekt bewegen oder Verunreinigungen und kleinste Partikel, die fast immer vorhanden sind, durch das Bild wandern lassen. Bei Stackingaufnahmen führt das zu Schlieren, Verzeichnungen und unschönen Artefakten im errechneten Bild. Auch können sich bereits geringste Erschütterungen der Arbeitsplattform auf das Präparat übertragen, was sich in Bewegungsunschärfe oder gar geringfügigem Wandern des Objektes in der Flüssigkeit zeigt.

Bei kleinen flachen Präparaten kann man sich mit einem Objektträger oder Deckglas behelfen, den man auf das zu fotografierende Objekt legt, um es zu fixieren. Es ist allerdings dabei zu beachten, dass das Einschleichen weiterer Brechungsebenen zwischen Objekt und Objektiv weitere Qualitätsverluste durch Streulicht verursachen kann, insbesondere wenn diese durch eine Fettschicht auf dem Glas oder feine Kratzer und Schmutzpartikel beeinträchtigt sind. Das teilweise Einbetten in Sand oder Glasgries führt zu Verunreinigungen und unschönen Hintergründen und hat sich damit nur bedingt bewährt. Als besser geeignet zeigten sich bislang klare, viskose, parfüm- und fettfreie Handwasch- und Haar-gele auf Alkoholbasis. Sie bilden aber teilweise schwer entfernbare Rückstände auf den Präpa-

raten und sind zudem für manche Objekte immer noch zu flüssig.

Aufgrund dieser Problematiken haben wir im Rahmen des DFG geförderten Projektes „Entwicklung von Standards zur Digitalisierung flüssigkonservierter Arthropoden“ DifA (Förderkennzeichen HO 4727/3-1, Laufzeit 1.9.2014 – 31.12.2017) ein Gel auf Wasserbasis mit völliger Flexibilität in Bezug auf die Viskosität entwickelt, das jeder selbst zu Hause oder im Labor anmischen kann. Man benötigt lediglich destilliertes Wasser (handelsübliches destilliertes Wasser aus dem Baumarkt) und Agarose in Laborqualität (nicht Agar Agar oder andere Agar-Produkte aus dem Lebensmittel-sortiment). Versuche mit handelsüblichem Agar und Pektin führten zu keinem befriedigenden Ergebnis, da diese Produkte nicht klar, sondern leicht gelb- beziehungsweise braun-stichig werden oder zumindest eine unerwünschte Trübung aufweisen.

## Herstellung

---

Es bietet sich an, zwei verschiedenen viskose Gele anzusetzen. Die dicker angemischten Gele haben eine leicht unebene Struktur beziehungsweise leichte Wölbungen an der Oberfläche, da sie aufgrund ihrer Zähigkeit nicht völlig plan ausfließen. Man benötigt zum Glätten ein dünneres Gel, das man darübergießt. Bewährt hat sich dafür eine 0,09%ige Lösung. Für die eigentliche Fixierung benötigt man Gele mit 0,13% bis 0,17%. Höhere Konzentrationen werden in der Regel schon zu fest und klumpig.

Mittels Waage werden in einem Wägeschälchen (Papierschliffchen) die in der Tabelle 1 aufgeführten Mengen (0,045 Gramm für 0,09%, 0,065 Gramm für 0,13% etc.) Agarose-Pulver abgewogen. Das Pulver wird anschließend in ein mikrowellene geeignetes Gefäß überführt, mit 50 Milliliter destilliertem Wasser vermischt und maximal 2 Minuten in der Mikrowelle bei 800 Watt kurz aufgekocht, bis eine klare Mischung entstanden ist. Wird das Gefäß anschließend verschlossen und zum Abkühlen in den Kühlschrank gestellt, geliert das Agarose-Gel optimal und schnell. Durch kurzes Aufschütteln wird die richtige Viskosität hergestellt. Bei Bedarf sollte das Gel einen Tag im Kühlschrank ruhen, damit eventuell entstandene Luftblasen nach oben steigen und das Gel verlassen können.

In luftdicht verschließbaren Gefäßen und im Kühlschrank aufbewahrt, behalten diese Agarose-Gele ihre Konsistenz für etwa drei Monate.

Die Verwendung von destilliertem Wasser ergibt sich aus folgendem Grund: Die für das Aushärten des Gels notwendigen Wasserstoffbrückenbindungen und elektrostatischen Interaktionen werden möglicherweise durch in Leitungswasser vorhandene Salze, Mikroorganismen, Mineralien, Schwebstoffe und so

weiter unterbunden; daher wird dringend die Verwendung von destilliertem Wasser zum Ansetzen des Agarose-Gels empfohlen.

### Verwendung

Man benötigt ein flaches Gefäß (zum Beispiel Blockschälchen, Petrischale) in der Größe passend für das zu fixierende Objekt. Auch hier ist ein Gefäß mit planem Boden zu bevorzugen, da jede Wölbung eines lichtbrechenden Mediums zu störendem Streulicht oder Lichtreflexen führen kann. Sehr gute Ergebnisse konnten im Experiment mit zurechtgeschnittenen transparenten Filmdöschen erzielt werden. Dazu muss das Filmdöschen (je nach Objektgröße) auf einer Höhe von 5 bis 15 Millimeter durchtrennt und in den Deckel mittig ein Loch von etwa vier bis sieben Millimeter Durchmesser gebohrt werden. Durch dieses Loch wird fotografiert, der verbleibende, milchig-transparente Rest des Deckels fungiert nun als Diffusor. Dies führte in Versuchen zu den besten Ausleuchtungsergebnissen.

Zuerst wird das dickflüssigere Gel (im Versuch immer eine 0,13%ige Lösung) gerade in der Menge eingebracht, dass das zu fotografierende oder zu betrachtende Präparat darin gut platziert werden kann. Das Präparat wird oben

Agarose-Gel [%]	Einwaage Agarose [g]	Einwaage Agarose [mg]	Verwendungszweck
0,09	0,045	45	Glätten der Oberfläche
0,13	0,065	65	Standard zum manuellen Fixieren
0,14	0,070	70	Festeres Gel je nach Beweglichkeit der Gliedmaßen am Präparat
0,15	0,075	75	
0,16	0,080	80	
0,17	0,085	85	
0,18	0,090	90	
0,19	0,095	95	

**Tabelle 1:** Menge an Agarose für 50mL Agarose-Gel.

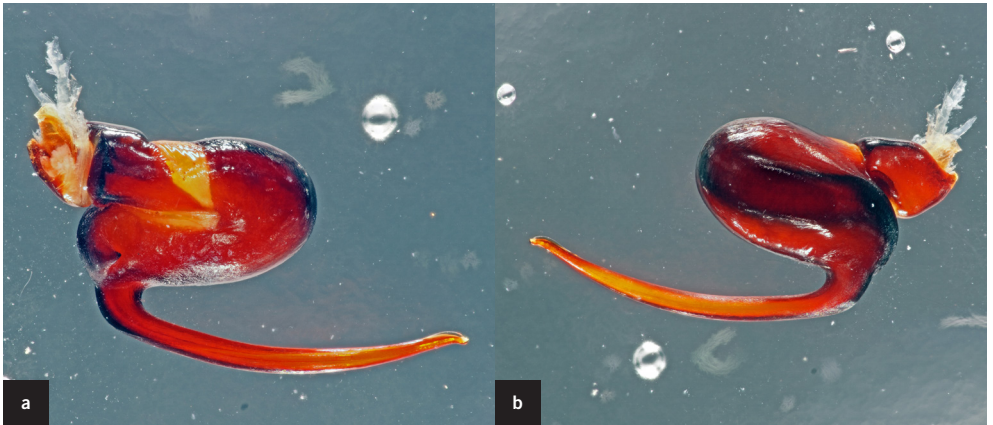


Abb. 1: linker Bulbus prolateral (a) und retrolateral (b) einer *Hystero crates* sp. (SMNS-Aran-002688) aus der Sammlung des Staatlichen Museums für Naturkunde Stuttgart. Nicht entfernte Luftblasen und Schmutzpartikel im Gel sind deutlich zu erkennen. Fotos: Andreas Haselböck

aufgelegt und unter dem Binokular mit einer geeigneten Pinzette entsprechend weit eingetaucht und in der entsprechenden Position ausgerichtet. Anschließend füllt man am besten mit einer Pipette das dünnflüssige Gel soweit darüber auf, dass die Oberfläche glatt ist. Jetzt muss unter dem Binokular nochmals die Position des Präparates überprüft und notfalls korrigiert werden. Bei dieser Gelegenheit lassen sich etwaige Luftbläschen oder Schmutzpartikel (Abb. 1 a,b) schnell mit einer Präpariernadel zur Seite schieben oder mit einer Pipette entfernen.

Man kann das Präparat beliebig in seiner Position verändern. Eventuell muss aber abschließend zur Oberflächenglättung weiteres dünneres Gel aufgefüllt werden, da sich durch das Hantieren im Gel die beiden verschieden konzentrierten Gele vermischen können. Eine feine Präpariernadel zum Bewegen des Objektes minimiert die Verwirbelung der beiden Gelschichten.

Mit Hilfe des Gels ist die senkrechte Fixierung eines länglichen Objektes leicht möglich, ohne dabei tiefer liegende Strukturen in Sand oder Glasgries verbergen zu müssen.

Eine genau definierte Positionierung beziehungsweise Ansicht diagnostischer Merkmale erleichtert die Vergleichbarkeit verschiedener Taxa. Hierzu werden zum Beispiel die Bulben von Vogelspinnen so positioniert, dass das Subtegulum, das ist der erste Teil des Bulbus,

der mit dem Tarsus und damit letzten Glied des Tasters verbunden ist, nach rechts beziehungsweise links oben zeigen (Bertani 2000). So kann neben den üblichen Seitenansichten (pro- beziehungsweise retrolateral, in diesem Fall auch prolateral-ventral; Abb. 2 a-c) insbesondere auch die sich schraubenartig windende Embolusspitze einer *Acanthoscurria paulensis* in Aufsicht auf die Spitze ohne Probleme fotografiert werden. Die verschiedenen Kiele am Embolus werden damit besser sichtbar (Abb. 2 d). Ein sich stark windender, dünner Embolus kann auf diese Weise besser abgebildet werden als in Seitenansicht.

Die Abbildungen entstanden aus Bilderstapeln, die mit einer auf einem Stativ montierten spiegellosen Digitalkamera (Sony ILCA Alpha 77 II) und einem Makroobjektiv (Sigma 105mm Macro F2,8 EX DG OS HSM) inklusive des Raynox DCR 250 Makrokonverters angefertigt wurden. Grundsätzlich eignen sich alle Digitalkameras für diese Methode.

Eine anschließende Bearbeitung der Bilder ist unumgänglich, beschränkt sich in den vorliegenden Fällen jedoch auf wenige Schritte: Stacking der Bilderstapel, Tonwertkorrektur, Tiefen und Lichter, Kontrast, Schärfe und Retusche (Abb. 3).

Erfolgreiche Versuche wurden durchgeführt mit Dipteren, Arachniden und Hymenopteren (Anmerkung: Symphyta wurden nicht erprobt).

### Zur Beachtung

Problematisch sind schwach sklerotisierte Objekte wie zum Beispiel das Opisthosoma bei Arachniden. Hier kann der Aufenthalt eines Alkoholpräparates in dieser wasserhaltigen Lösung ohne anschließende Alkoholreihe Deformationen hervorrufen. Dieses Phänomen tritt umso stärker auf, je größer das Tier beziehungsweise je länger die Verweildauer im Gel ist.

### Staub und andere Partikel

Auf allen Gelen lagert sich während der Fotografie oder Mikroskopie sehr schnell Staub ab, der sich störend bemerkbar macht. Lange Latex- oder Gummihandschuhe, die man über die Ärmel von Kleidungsstücken zieht, sind sehr zu empfehlen. Dennoch wird das Medium während der Arbeiten mehr oder weniger

stark durch Luftstaub und Fussel sowie vor allem auch durch bestehende Verschmutzungen des Präparates verunreinigt, sodass es sich empfiehlt, das Gel bei größeren Fotoserien in regelmäßigen Abständen zu wechseln.

In Agarose-Gelen verbleiben beim Ansetzen manchmal verklumpte Agarosepartikel. Diese lassen sich leicht mit einer feinen Nadel zur Seite schieben. Auch sollten die Präparate nicht tropfnass in das Gel übertragen werden. Der Alkoholfilm kann zu unschönen Schlieren im Gel führen, was die Bildqualität entscheidend beeinträchtigen kann.

Es empfiehlt sich generell die zu fotografierenden Präparate unter dem Binokular auszurichten. Einerseits minimiert man dadurch Beschädigungen empfindlicher Strukturen, wie zum Beispiel das Abbrechen von Borsten, andererseits sind störende Fremdkörper leicht zu erkennen und zu beseitigen.



**Abb. 2:** Rechter Bulbus von *Acanthoscurria paulensis* (SMNS-Aran-001112) prolateral (a), prolateral-ventral (b), retrolateral (c) und in Aufsicht auf die Embolusspitze (d). Fotos: Andreas Haselböck



**Abb. 3:** Pseudoskorpion; Bild nach den im Text genannten Bearbeitungsschritten. Foto: Andreas Haselböck

Nach Abschluss der Arbeiten muss das Präparat zunächst durch leichtes Schwenken oder Schütteln in einer separaten Alkohollösung von Agarose-Gelresten gesäubert werden bevor es wieder in die Konservierungsflüssigkeit überführt wird.

### Summary

Taking macro-images of fluid-conserved specimens or of their parts provides various problems usually caused by the liquidness of the fluid.

The authors describe a method to lock these specimens or their parts into position using an agarose-gel. This gel is easily fabricated and its viscosity can be adjusted for its application.

### Literatur

BERTANI, R. (2000). Male palpal bulbs and homologous features in Theraphosinae (Araneae, Theraphosidae). *Journal of Arachnology* 28: 29-42.

<http://wiki.difa-smns.de/web/Hauptseite>

### Adressen der Autoren

Andreas Haselböck  
 Usedomstraße 7  
 70439 Stuttgart  
[www.naturspaziergang.de](http://www.naturspaziergang.de)  
 E-Mail: [andreas.haselboeck@smns-bw.de](mailto:andreas.haselboeck@smns-bw.de)

Anne-Kristin Schilling  
 Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart  
 Rosenstein 1  
 70191 Stuttgart  
 E-Mail: [annekristin.schilling@smns-bw.de](mailto:annekristin.schilling@smns-bw.de)

Ingo Wendt  
 Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart  
 Rosenstein 1  
 70191 Stuttgart  
 E-Mail: [ingo.wendt@smns-bw.de](mailto:ingo.wendt@smns-bw.de)

Joachim Holstein  
 Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart  
 Rosenstein 1  
 70191 Stuttgart  
 E-Mail: [joachim.holstein@smns-bw.de](mailto:joachim.holstein@smns-bw.de)