Nr.: M 8 Blatt 1 - 4	Lichtmikroskopie

Methode: **Durchlicht-Fluoreszenzmikroskopie**

pflanzlicher Zellen und Gewebe

Literatur: C. REICHERT: Fluoreszenzmikroskopie mit Fluorochromen. Wien 1963.

Anwendungsbereich:

Schnitte verschiedenster Art.
Erreger- und Sperrfilter für die Fluorochrome s. M 10.

Zellkerne und Protoplasma

1. Fluorochromieren mit Coriphosphin und Fuchsin

a) Fluorochromieren 4 Minuten in Mischung:
Wässerige Lösung von Coriphosphin 1:10000 . . . . . 75 ccm
Wässerige Lösung von Fuchsin 1:10000 . . . . . 25 ccm
b) Waschen.

Zellkerne gelbgrün bis gelb, Protoplasma rot, Kernkörperchen (bei starker Vergrößerung) orange, Karyotin gelbgrün, Chromosomen gelbgrün.

2. Fluorochromieren mit Akridinorange

a) Fluorochromieren 10 Minuten in wässeriger Lösung von Akridinorange 1:5000.
b) Waschen.

Zellkerne grün, Protoplasma rot.

DÖRING, H. Versuche über die Aufnahme fluoreszierender Stoffe in lebenden Pflanzenzellen.
Ber. Dtsch. Bot. Ges., **53** (1935), 4: 415—437.
HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie und ihre Anwendung in der Botanik.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. 1, **50** (1933): 432—444.
HAITINGER, M. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 2. Wirkung der Fluorochrome auf pflanzliche Zellen.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 378—386.
HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Darstellung organisierter Zelleinschlüsse.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 387—397.
HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 49, 50, 57, 61, 62, 67.

Eiweißkristalle

Fluorochromieren mit Aminoterephthalsäure

a) Fluorochromieren 1 Minute in Mischung:
Alkoholische (50 Vol%ige) Lösung von Aminoterephthalsäure (kalt gesättigt) . . . . . 50 ccm
Wasser . . . . . 50 ccm
b) Waschen.

Eiweißkristalle blau.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seite 51, 62, 64.
HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Darstellung organisierter Zelleinschlüsse.
Beihefte Bot. Zbl. Abt. A, **53** (1935): 387—397.

Eiweißkristalle – Lokalisierung neben Fett in fetthaltigen Samen (z. B. Bertholletia, Corylus usw.)

Fluorochromieren mit Aminoterephthalsäure, Primulin und Chlorophyll-Extrakt

a) Fluorochromieren 2 Minuten in alkoholischer (50 Vol%iger) Lösung von Aminoterephthalsäure (kalt gesättigt).
b) Waschen mit destilliertem Wasser.
c) Fluorochromieren 10 Sekunden in wässeriger Lösung von Primulin 1:1000.
d) Waschen mit destilliertem Wasser.
e) Fluorochromieren in Chlorophyll-Extrakt, unverdünnt.
f) Waschen.
g) Nach Verwendung von Chlorophyll-Extrakt einbetten nur in Glyzerin.

Eiweißkristalle blau, Fett rot, Zellwände gelb.

Dieselbe Literatur wie bei „Eiweißkristalle".

Vakuolen (Zellsäfte) – Vitalfärbung

1. Fluorochromieren mit Akridinorange

a) Fluorochromieren 5 bis 10 Minuten in alkalischer Lösung (p_H 8 bis 10) von Akridinorange 1:5000.
b) Waschen in alkalischer Pufferlösung (p_H 8 bis 10).

Speichernde Zellsäfte grün bis gelbgrün, nichtspeichernde Zellsäfte ziegelrot.

2. Fluorochromieren mit Rhodamin B

a) Fluorochromieren in wässeriger Lösung von Rhodamin B 1:1000.
b) Waschen.

Speichernde Zellsäfte goldbraun, nichtspeichernde Zellsäfte nicht fluoreszierend.

BUKATSCH, F. Die fluoreszenzmikroskopische Darstellung von Lebensvorgängen in der Pflanze, insbesondere der Zell- und Kernteilung.
Z. Gesamte Naturwiss., **6** (1940), 3/4: 90—92.
— Einige Anwendungsgebiete der Fluoreszenzmikroskopie.
Z. Gesamte Naturwiss., **7** (1941), 9/10: 288—296.
BUKATSCH, F.; HAITINGER, M. Beiträge zur fluoreszenzmikroskopischen Darstellung des Zellinhaltes, insbesondere des Cytoplasmas und des Zellkerns.
Protoplasma (Berlin), **34** (1940): 515—523.
HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seite 55, 56, 61.
STRUGGER, S. Beiträge zur Gewebephysiologie der Wurzel. Zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot.
Protoplasma (Leipzig), **24** (1935): 108—127.
— Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot.
Protoplasma (Leipzig), **26** (1936): 56—69.
— Die Vitalfärbung der Chloroplasten von Helodea mit Rhodamin.
Flora (Jena), **131** (1936/37): 113—128.
— Weitere Untersuchungen über die Vitalfärbung der Plastiden mit Rhodamin.
Flora (Jena), **131** (1936/37): 324—340.
— Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6 G.
Protoplasma (Berlin), **30** (1938): 85—100.
— Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes im Parenchym.
1. Die Methode und die ersten Beobachtungen.
Flora (Jena), **133** (1938/39): 56—68.
2. Die Eigenschaften des Berberinsulfats und seine Speicherung durch lebende Zellen.
Biol. Zbl., **59** (1939), 5/6: 274—288.
3. Untersuchungen an Helxine Soleirolii Req.
Biol. Zbl., **59** (1939), 7/8: 409—442.
— Die Anwendung der Lumineszenzmikroskopie in der Botanik.
Zeiss-Nachr., **3** (1939—1940), 1/5: 69—82.

"Waschen" bedeutet: So lange unter fließendem Leitungswasser oder dest. Wasser waschen, bis das Waschwasser in sichtbarem Licht vollkommen farblos erscheint.

Plasmanetz in Samen

Fluorochromieren mit Aminoterephthalsäure, Jod und Primulin

a) Fluorochromieren 2 Minuten in Mischung:
Alkoholische (60 Vol%ige) Lösung von Aminoterephthalsäure (kalt gesättigt) . . . . . 50 ccm
Wasser . . . . . 50 ccm
b) Waschen mit destilliertem Wasser.
c) Baden in alkoholischer (96 Vol%iger) Lösung von Jod 1:100, bis die Stärke im sichtbaren (!) Licht tiefblau erscheint.
d) Waschen mit destilliertem Wasser.
e) Fluorochromieren 10 Sekunden in wässeriger Lösung von Primulin O 1:10000.
f) Waschen.

Zellwände gelbgrün, Plasmastränge bläulich, Stärke nicht fluoreszierend, Zellkerne gelblich.

HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie und ihre Anwendung in der Botanik.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. 1, **50** (1933): 432—444.
HAITINGER, M. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 2. Wirkung der Fluorochrome auf pflanzliche Zellen.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 378—386.

HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Darstellung organisierter Zelleinschlüsse.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 387—397.
HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 60, 65.

Zellwände

1. Fluorochromieren mit Coriphosphin

a) Fluorochromieren 1 Minute in wässeriger Lösung von Coriphosphin O 1:1000.
b) Waschen.
c) Zur Herstellung von Dauerpräparaten nachbaden in verdünntem Formol (4%ig).

Zellwände orange.

2. Fluorochromieren mit Magdalarot

a) Fluorochromieren 1 Minute in wässeriger Lösung von Magdalarot 1:1000.
b) Waschen.
c) Zur Herstellung von Dauerpräparaten nachbaden 10 Minuten in verdünntem Formol (4%ig).

Zellwände orangerot.

Dieselbe Literatur wie bei „Vakuolen (Zellsäfte) — Vitalfärbung".

Herstellung der Fluorochrom-Lösungen

1 : 100	=	1g in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol
1 : 500	=	0,2g in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol
1 : 1000	=	0,1g in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol
1 : 5000	"	20 mg in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol
1 :10000	=	10 mg in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol

Wäßrigen Fluorochrom-Lösungen, die nicht für lebende Objekte bestimmt sind oder bei einem bestimmten pH-Wert verwendet werden sollen, setzt man zur besseren Haltbarkeit einige Tropfen verflüssigtes Phenol (=Karbolsäure) zu.

Vitamin B_1 („Antineurin")

Nachweis in Keimlingen

a) Fluorochromieren 8 Minuten in Mischung:

Wässerige Lösung von Rotem Blutlaugensalz (2%ig)	25 ccm
Wässerige Lösung von Natriumhydroxyd (20%ig)	25 ccm
Alkohol (96 Vol%ig)	50 ccm

b) Baden 5 Minuten in Isobutylalkohol (danach nicht waschen!).

Vitamin B_1 in Scutellum und Keimling kornblumenblau.

KUHN, R.; VETTER, H. Zur Kenntnis des Thiochroms.
Berichte Deutsche Chemische Gesellschaft, **68** (1935), 12: 2375—2385.

OTTO, H.; RÜHMEKORB, F. Quantitative Bestimmung des Vitamin B_1 in Körperflüssigkeiten durch Messung der Lumineszenzstärke mit dem Stufenphotometer.
Klinische Wochenschrift, **17** (1938), 36: 1246—1247.

RISERT, K. Zur Aneurinbestimmung im Harn nach der Jansenschen Thiochrommethode.
Deutsche Medizinische Wochenschrift, **64** (1938), 14: 481—484.

SCHNEIDER, E.; BURGER, A. Der Vitamin-B_1-Spiegel in Blut und Urin und seine Veränderungen bei den Hyperthyreosen und bei der Krebskachexie.
Klinische Wochenschrift, **17** (1938), 26: 905—907.

Holz

a) Fluorochromieren.

	Konzentration der wässerigen Fluorochromlösung	Einwirkungsdauer in Minuten	Fluoreszenzfarbe	
			verholzt	unverholzt
1. Coriphosphin . .	1:1000	1	grüngelb	orange
2. Euchrysin . .	1:1000	$^1/_4$	hellgrün	orangerot
3. Berberinsulfat . . .	1:1000	$^1/_2$	grellgelb	—
4. Primulin	1: 500	1	gelb	hellgrün
5. Rhodamin 6 G . . .	1:1000	1	orangegelb	schwach gelb
6. Akridinorange . .	1:1000	1	grün	—

b) Waschen.

c) Zur Herstellung von Dauerpräparaten, besonders bei Verwendung von Akridinorange , nachbaden 10 Minuten in verdünntem Formol (4%ig).

EICHLER, O. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über Verholzung und Lignin.
Papierfabrikant, Beilage Cellulosechemie, **15** (1934), Heft 11/12 und **16** (1935), Heft 1.

HAITINGER, M.; LINSBAUER, L.; EIBL, A. Über das Verhalten lebender und erfrorener Gehölze im ultravioletten Lichte.
Biochem. Z., **215** (1929): 191—196.

HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie und ihre Anwendung in der Botanik.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. 1, **50** (1933): 432—444.

HAITINGER, M. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 2. Wirkung der Fluorochrome auf pflanzliche Zellen.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 378—386.

HAITINGER, M.; LINSBAUER, L. Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Darstellung organisierter Zelleinschlüsse.
Beihefte Bot. Zbl., Abt. A, **53** (1935): 387—397.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 31, 33, 56, 61.

KISSER, I. Die Primärfluoreszenz verholzter Zellwände.
Mikrokosmos, **40** (1950/51), 1: 7—8.

KISSER, J.; WITTMANN, W. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an verholzten Zellwänden.
Mikrochemie (Wien), **36/37** (1951): 1134—1145.

KÜNEMUND, A. Die Entstehung verholzter Lamellen, untersucht besonders an Salix alba.
Botan. Arch., **34** (1932), 3/4: 462—521.

LEHMANN, H. Das Lumineszenz-Mikroskop, seine Grundlagen und seine Anwendung.
Z. Wissenschaftl. Mikroskopie Mikroskop. Techn., **30** (1913), 4: 417—470.

STRUGGER, S. Die Fluoreszenz im Dienste der biologischen Forschung.
Chemie (Angew. Chem. Neue Folge), **55** (1942), 45/46: 339—341.

— Die Untersuchung lebender und toter Zellen mit Hilfe der Akridinorangefärbung.
Mikrokosmos, **36** (1942/43), 2/3: 21—23.

VODRAZKA, O. Das Mikroskopieren von Holz in filtriertem Ultraviolettlicht.
Z. Wissenschaftl. Mikroskopie Mikroskop. Techn., **46** (1929), 4: 497—505.

WASICKY, R. Das Fluoreszenz-Mikroskop in der Pharmakognosie.
Pharmaz. Post, **46** (1913), 82: 877—878.

WISLICENUS, H. Über Probleme der stofflichen Holzforschung. I.
Zeitschr. Angewandte Chemie, **41** (1928), 50: 1312—1316.