
Eine Färbung mit Safranin-Lichtgrün

von

Dr. Felix Schumm

Am 23. Oktober 1998 berichtete Dr. Schumm in einem Experimentierabend vor den Mitgliedern der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft Stuttgart e. V. über seine Erfahrungen mit dieser Färbemethode

Seit Dr. Etzold sein simultanes Farbgemisch aus Fuchsin-Safranin-Astrablau (Mikrokosmos 1983, S.213-219) bekannt gegeben hat, haben wir in der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft botanische Schnitte fast nur noch mit dieser zuverlässig und gut arbeitenden Simultanfärbung präpariert.

Verloren geht dabei allerdings die Freude des Ausprobierens anderer Farbkombinationen und das Gefühl, wie die Farbkomponenten einzeln wirksam sind.

Wir haben an diesem Abend daher zurückgegriffen auf die alte Methode, Schnitte nacheinander mit verschiedenen Farben zu behandeln.

Als Objekt verwendeten wir Clematis-Stengel mit ihren großlumigen Tracheen, die auch bei dickeren Handschnitten, wenn sie nur genau quer zur Stängellängsachse geführt sind, gute Präparate liefern

Die Stengel wurden zuvor in Alkohol-Eisessig fixiert und in 60% Spiritus bis zum Präparationsabend aufbewahrt. Sie lassen sich gut mit der Rasierklinge schneiden und sind weder zu hart noch zu weich. Durch die Alkoholaufbewahrung sind die Schnitte so fest, dass sie die folgenden Manipulationen ganz gut ohne Verknittern überstehen.

Jeder fertigte ca. 10 Schnitte und sammelte sie in Wasser in einem Uhrglasschälchen.

Um einen Überblick über die tatsächlich verholzten Teile des Stängels zu erhalten, legten wir einen Schnitt in salzsaures Anilin, das Lignin gelb färbt. Es zeigte sich später, dass Safranin ziemlich genau diese verholzten Teile bevorzugt anfärbt, bzw. von diesen Teilen nur langsam wieder in Alkohol beim Differenzieren ausgezogen wird.

Nach diesem Vortest färbten wir die Schnitte in verdünnter wässriger

Safraninlösung im Urglassschälchen oder auf dem Objektträger (1-5 min). Unter dem Stereomikroskop kann man gut verfolgen, wie sich Sklerenchyme und Xylem schneller und intensiver anfärben. Dann differenzieren wir die Schnitte mit Spiritus, immer unter mikroskopischer Kontrolle, bis weitgehend nur noch die verholzten Teile rot gefärbt waren.

Als Gegenfärbung wählten wir Lichtgrün in alkoholischer Lösung um eine von der Etzoldfärbung unterschiedliche Farbkombination zu erhalten.

Die nun folgenden Schritte, die sehr schnell gehen müssen, führten wir auf dem Objektträger aus, indem wir die Reagenzien auftröpfen und ihren Überschuss jeweils durch Abkippen um die Längsachse des Objektträgers und Aufsaugen mit Papiertaschentüchern entfernten.

In ca. 2-3-mal gewechseltem 100 % Isopropylalkohol wird das überschüssige Lichtgrün ausgewaschen und gleichzeitig der Schnitt von Wasserspuren befreit. Hier muss man darauf achten, dass dem Schnitt nicht das ganze Lichtgrün entzogen wird, andererseits aber das Rot des Safranins wieder voll zur Geltung kommt. Es folgen 2-3 Xylol-Passagen bis der Alkohol verdrängt ist. Nach Auftropfen von Malinol (od. Euparal etc.) und dem Auf-

legen des Deckglases ist das Dauerpräparat fertig.

Wir haben die Safraninfärbung auch mit verdünntem Astrablau (wässrige Lös.) gegengefärbt. Das Herstellen von Dauerpräparaten ist hier leichter, da Astrablau von Alkohol kaum entfernt wird. Die Präparate gleichen dann natürlich weitgehend denen, die das Etzoldsche Gemisch erzeugt.

Wir haben auch noch etwas Kallichrom-Lösung (Auramin-Cresylecht-violett-Gemisch) angesetzt und damit Schnitte angefärbt. Besonders im polarisierten Licht zeigt diese Färbung reizvolle Bilder.

Fassen wir kurz die Arbeitsgänge nochmals tabellarisch zusammen:

1. Safranin (wässrige Lösung) verdünnt 1-5 min
2. Auswaschen in Wasser
3. Differenzieren in Spiritus bis nur noch verholzte Teile rot sind
4. Gegenfärben mit Lichtgrün (alkohol. Lösung) 1-5 min
5. Entwässern und Lichtgrün differenzieren mit Isopropanol 100%
6. Xylol
7. Malinol

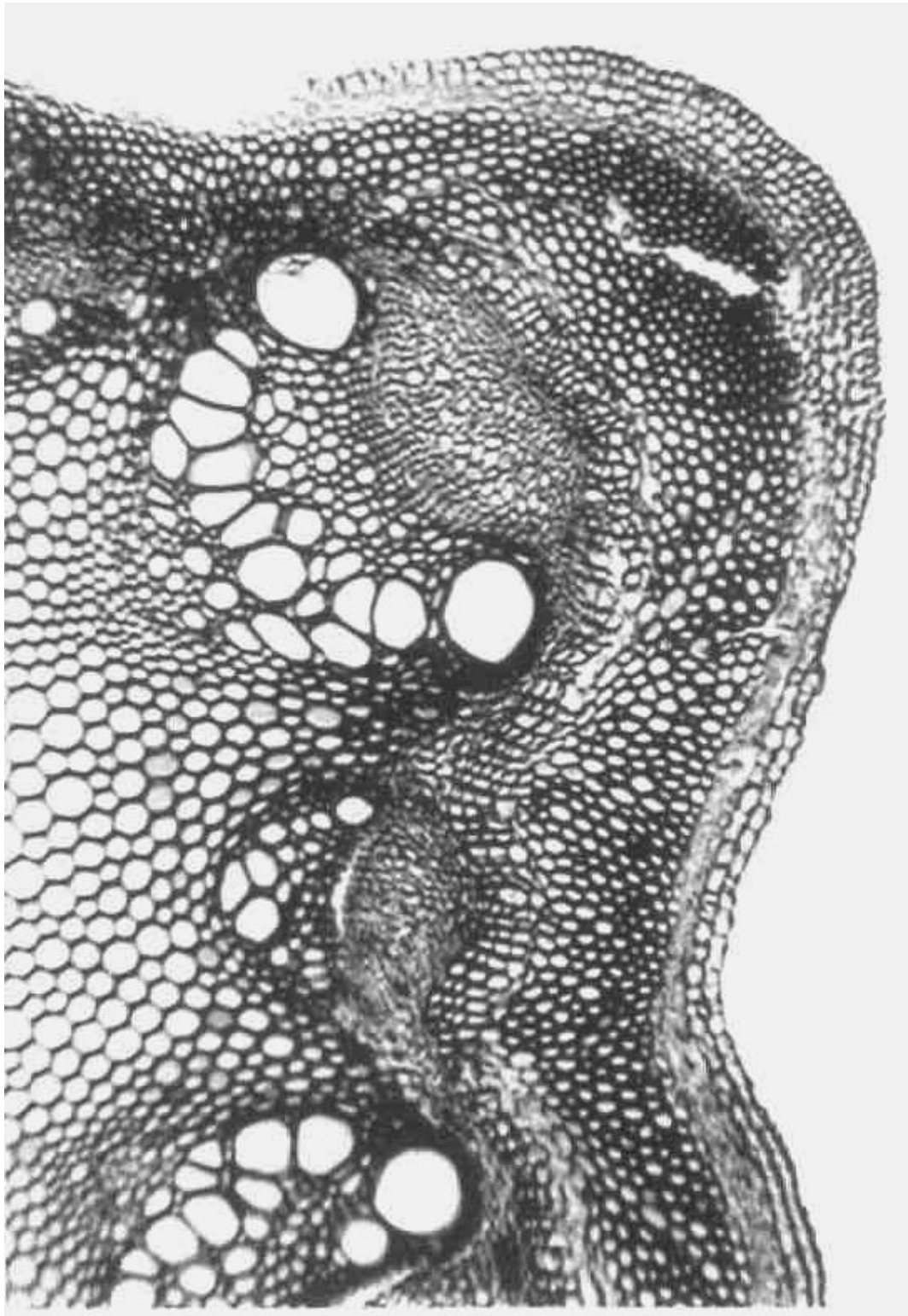


Abb. 1: Querschnitt durch einen so gefärbten Stängel von Clematis

Literatur:

Etzold, H. (1983): Eine kontrastreiche, simultane Mehrfachfärbung für pflanzenanatomische Präparate: Fuchsin-Safranin-Astrablau. Mikrokosmos, Jg. 72, S. 213-219

Schömmmer, F. (1949): Kryptogamen-Praktikum. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart

Schumm, F. (1964): Leitbündel-Doppelfärbungen an Schnitten. Mikrokosmos, Jg. 53, S. 348-349