

mittelten richtenden Einfluss des Lichtes wohl vereinbar. Die Versuche, die ich in Helgoland anstellen konnte, reichten aber zur näheren Analyse des Vorgangs nicht aus, so dass eine Prüfung meiner soeben geäußerten Annahme nicht über die ersten Anfänge hinausgekommen ist.

Halle a. S., Botanisches Institut der Universität.

80. B. Němec: Über inverse Tinktion.

Eingegangen am 27. November 1906.

Wir besitzen in der botanischen Mikrotechnik keinen Farbstoff, der auf die Dauer spezifisch die Stärkekörner tingieren würde und den man besonders ohne weiteres zur Färbung von Mikrotomschnitten, die in Paraffin eingebettet waren, benützen könnte. Zwar kann man bei dem FLEMMING'schen Safranin-Gentiana-Orange-G. (oder mit Gentianaviolett überhaupt) ziemlich gute Tinktionen der Stärkekörner bekommen, dieselben sind jedoch schwach und nicht immer scharf genug, um die Verteilung der Stärke in der Zelle auffallend zu machen.

Ich habe vor zehn Jahren verschiedene Tinktionen probiert, um mich über ihre Anwendbarkeit in der botanischen Mikrotechnik zu überzeugen. Da handelte es sich unter anderem auch um die Tinktion von plasmatischen Differenzierungen, die sich sonst nicht oder nur schwach färben. Ich hegte die Hoffnung, dass das RAWITZ'sche Tannin-Brechweinstein-Verfahren zum Ziele führen könnte und probierte es am botanischen Material mit mehreren Farbstoffen aus. Doch musste das Verfahren modifiziert werden, um die Entstehung der lästigen Niederschläge zu vermeiden und den ganzen Prozess eventuell zu verkürzen. Seit jener Zeit benutze ich häufig diese inverse Tinktion, und zwar speziell zur Tinktion der Stärkekörner. Zehn Jahre alte Präparate haben bis heute ihre wunderschönen Tinktionen behalten, so dass sich die Tinktion auch als dauerhaft erwiesen hat. Ich teile das Verfahren mit, weil ich dazu von mehreren Seiten aufgefordert wurde und weil ich der Meinung bin, dass es zu bestimmten Zwecken auch bei anderen Botanikern Aufnahme finden wird.

RAWITZ benutzte zur Umkehrung der Tinktion eine Beizung der Präparate mit 20 pCt. wässriger Tanninlösung und nachherige Behandlung mit 1—2 pCt. Brechweinstein. Färbt man dann die Präparate mit alkoholischer Fuchsin- oder Safraninlösung oder mit Gentianaviolett, Smaragdgrün usw., so wird hauptsächlich das Plasma gefärbt, sowie das Linin der Zellkerne, das „Chromatin“ bleibt ungefärbt. Es tritt tatsächlich eine umgekehrte Färbung ein (vgl. RAWITZ, Leitfaden der histol. Unters., 1895, STRASBURGER, Das botanische Praktikum, IV. Aufl. 1902, S. 726). In der zoologischen Mikrotechnik fand dieses Verfahren keine grosse Verbreitung, ich las Klagen über seine Unsauberkeit. Es wurde durch die HEIDENHAIN'sche Beizungsmethode ganz unterdrückt.

Ich habe inverse Tinktionen an Objekten vorgenommen, die entweder mit Pikrin-Eisessig-Schwefelsäure (das Quantum der Schwefelsäure sollte für jedes Objekt ausprobiert werden, man darf von derselben nicht zu viel nehmen), oder mit Chromsäure oder schliesslich mit FLEMMING'scher Lösung (Chrom-Osmium-Essigsäure) fixiert wurden. Sie ergab gleich gute Resultate, doch ist zu bemerken, dass mit Osmiumsäure fixierte Präparate vorher sehr gut mit Terpentin oder Wasserstoffsuperoxyd zu behandeln sind. Die Mikrotomschnitte kommen (nach vorheriger Überführung in Wasser) zunächst in eine 2 pCt. wässrige Tanninlösung, wo sie 10 bis 60 Minuten verbleiben. Hierauf werden sie etwa eine Minute in Wasser gewaschen und kommen auf 5 bis 15 Minuten in 1,5 pCt. wässrige Brechweinsteinlösung. Sie werden dann in mehrmals gewechseltem Wasser gut ausgewaschen (1 bis 3 Minuten genügen) und kommen hierauf in die Farbstofflösung, z. B. in wässrige Gentianaviolettlösung. Das Auswaschen nach der Brechweinsteinbehandlung ist unbedingt nötig, da sonst im Präparate Niederschläge entstehen, die kaum mehr zu entfernen sind. In der Farbstofflösung verbleiben die Schnitte etwa 30 Minuten, doch schadet ihnen auch ein längerer Aufenthalt nicht. Sodann werden die Schnitte etwa 5 Minuten lang im Wasser gewaschen, durch Alkohole von steigender Konzentration in absoluten Alkohol gebracht, wo man sie solange lässt, bis keine auffallenden Farbstoffwolken mehr entweichen. Sie werden dann schnell in Terpentin, aus diesem in Xylol gebracht und in Canadabalsam eingebettet. Die Entfärbung im Alkohol geht meist schnell vor sich, sie dauert kaum länger als 5 Minuten. Man kann somit etwa in einer Stunde mit der ganzen Färbung fertig sein; wenn man also Glaskästen zur gleichzeitigen Behandlung von mehreren Präparaten anwendet, so ist es eigentlich eine sehr schnelle und bequeme Methode.

Was erzielt man nun mit dieser inversen Färbung? Das Cytoplasma erscheint schwach grau oder violett gefärbt, ebenso die achro-

matischen Bestandteile der Teilungsfiguren. Die Kerne, sowie die Chromosomen bleiben ungefärbt. Die zellulösen Zellwände sind schwach violett gefärbt, stärker erscheinen verschleimte Zellwände tingiert. Was jedoch sofort an solchen Präparaten ins Auge fällt, das sind die sehr stark violett tingierten Stärkekörner. Die Leukoplaste sind grau, kaum stärker wie das Cytoplasma gefärbt.

Die Tinktion der Stärkekörner ist sehr rein, scharf und spezifisch, und da das Cytoplasma nur schwach grau gefärbt erscheint, so sind sie sehr auffallend, und ihre Verteilung in der Zelle lässt sich sehr bequem studieren. Keine andere Methode gibt so prägnante und spezifische Tinktion der Stärkekörner wie die inverse.

Man kann auch Präparate erzielen, wo das Cytoplasma ganz ungefärbt bleibt, wogegen die Stärkekörner leuchtend violett erscheinen, und zwar dann, wenn man bloss mit 2 pCt. Tannin beizt. Man kann etwa 30—60 Minuten die Schnitte beizen, hierauf in Wasser auswaschen und auf 30—60 Minuten in wässriges Gentianaviolett übertragen. Die Differenzierung im Alkohol muss vorsichtig geschehen, damit man nicht allzu viel entfärbe. Doch passiert dies selten. Es ist am besten, wenn man die schwächeren Alkohole rasch wechselt und die eigentliche Entfärbung im absoluten Alkohol sich vollziehen lässt.

Will man hingegen das Cytoplasma stärker färben (wobei natürlich die Tinktion der Stärkekörner nicht so auffallend wirkt), so muss man die Schnitte länger im Brechweinstein lassen. Für gewöhnlich bietet dies keine Vorteile, da das Cytoplasma einen mehr schmutzigg-violetten Ton annimmt. Je länger die Präparate im Brechweinstein verbleiben, desto stärker wird das Cytoplasma (sowie die achromatischen Bestandteile der Teilungsfiguren) gefärbt.

Man kann diese Methoden auch mit einer Tinktion der Zellkerne sowie der Chromosomen verbinden. Man durchfärbt z. B. vor dem Einbetten in Paraffin die Objekte mit Parakarmin. Die Kerne behalten dann auch während der inversen Tinktion ihre schön rote Farbe. Oder man färbt Schnitte von ungefärbten Objekten mit Fuchsin-S und tingiert dann invers; da sich dann in Brechweinstein die Fuchsintinktion sehr schön differenziert, so dass fast nur Kerne tingiert bleiben, so bekommt man auf diese Weise sehr schöne Doppelfärbungen. Oder man färbt die Schnitte nach der HEIDENHAIN'schen Methode, hierauf tingiert man invers. Man bekommt schwarz strukturierte Kerne und schwarzgraues Cytoplasma, in dem sich leuchtend violette Stärkekörner befinden.

Die schönsten Resultate gibt Gentianaviolett. Man kann aber auch mit grossem Vorteil Safranin (wie es im FLEMMING'schen Verfahren angewendet wird) benutzen. Nach einer successiven Beizung mit Tannin und Brechweinstein bekommt man sehr schöne Cyto-

plasmatickation, die achromatischen Figuren erscheinen äusserst klar und auffallend. Die Stärkekörner treten nicht ganz prägnant hervor, obzwar sie immerhin gut zu sehen sind. Beizt man hingegen tüchtig bloss mit Tannin, so bekommt man eine ebenso reine und exklusive Tinktion der Stärkekörner wie mit Gentianaviolett. Auch Smaragdgrün kombiniert mit Fuchsin-S gibt schöne Bilder.

Mit Hilfe der eben beschriebenen Methode bekommt man unübertrefflich klare Bilder der Verteilung von Stärke in der Zelle oder in einem ganzen Organ. Ich habe dieselbe bei meinen Stolithenstudien in der letzten Zeit mit einem grossen Erfolg benutzt, sie gibt überraschend schöne Bilder. Zweitens hat sie mir sehr gute Dienste beim Studium der Verteilung der Stärkekörner in der Zelle während der Kernteilung geleistet. Dieses Thema ist noch wenig studiert worden, und es wird uns manchen Aufschluss über die Umlagerungen geben, die während der Kernteilung in der Zelle stattfinden. Ich verweise nur auf die Teilungen, welche in den Pollenmutterzellen von *Larix decidua* vor sich gehen, wo die Stärke samt ihren Leukoplasten während der Teilung ganz gesetzmässige Umlagerungen erfährt. Weiter lässt sich die Methode sehr gut da anwenden, wo es sich um das Studium der Entstehung der Stärke in Amyloplasten handelt, denn die Stärke wird schon als ganz winziges Körperchen scharf und satt gefärbt.

Schliesslich sei darauf hingewiesen, dass man mit Hilfe der inversen Methode äusserst klar auch Pilzhyphen in den Zellen tingieren kann. Ihre Wände tingieren sich nämlich ebenso stark wie Stärkekörner, so dass sich ihr Verlauf sehr gut verfolgen lässt. Besonders gute Dienste hat mir diese Methode beim Studium der Mykorrhiza in *Neottia*-Wurzeln geleistet. Doch scheint es mir, dass sich nicht Pilzhyphen aller Arten werden so spezifisch tingieren lassen. An *Uromyces pisi* hat mir die inverse Methode nur mittelmässige Resultate ergeben, ebenso an *Ustilago Tragopogonis*. Die Präparate, welche ich von *Neottia*-Wurzeln hergestellt habe, sind jedoch überraschend klar.

Prag, Pflanzenphysiolog. Institut der k. k. böhm. Universität.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [24](#)

Autor(en)/Author(s): Nemeč Bohumil Rehor

Artikel/Article: [Über inverse Tinktion. 528-531](#)