

BEITRÄGE ZUR GEOLOGIE DER SCHWEIZ - HYDROLOGIE	Bd. 28 I	S. 131 - 134	Bern, 1982
---	----------	--------------	------------

FLUORESZIERENDE SPOREN ALS MARKIERUNGSMITTEL

Werner Käss, Freiburg/Br.

Geologisches Landesamt Baden-Württemberg Freiburg/BRD

Abstract: Fluorescent spores had been proved to be very advantageous in many an aspect compared with spores dyed with pigmentcolours. The advantage mainly lies in the investigation of the samples. The technique of dyeing, application, and the technique of taking samples don't differ from the conventional methodics.

An efficient fluorescence-microscope with enough power is needed for the investigation. Modern fluorescence-microscopes are supplied with various excitation- and fluorescence combinations. Spores dyed with various fluorescence colours can be detected side by side with them.

Contrary to the method with pigment-colours a saving of time can be gained by the factor 10 to 20.

Die in der Markierungstechnik von Karstwässern seit langem eingeführte Methode der Sporentrift hat sich in zahlreichen Versuchen gut bewährt. Nachdem die Färbetechnik die Sporen mit 5 verschiedenen Farben anzufärben im Stande war, konnte man damit 5 verschiedene Eingabestellen bedienen. Dies erspart zeitraubende und kostspielige Nachuntersuchungen, weil man in den Proben die 5 verschieden gefärbten Sporen auseinanderhalten kann. Als wesentliche Einschränkung bei der Sporentriftmethode ist die sehr zeitaufwendige Durchsicht der Sporenpräparate im Ste-

reomikroskop zu bezeichnen. Bei sehr verschmutzten Proben kann die Durchmusterung einer einzigen Probe einen ganzen Arbeitstag beanspruchen.

Bei Sporentriftversuchen werden bei den zu beobachtenden Wasser-
austritten Planktonnetze eingesetzt. Dabei wird zwar durch ein
Drahtgitter grösseres Getreibsel ferngehalten. Im Netz werden
jedoch alle Triftkörper zurückgehalten, die grösser als 0,01 mm
sind. Dadurch wird die Untersuchung der Netzproben erschwert.

Um Sporen besser auffinden zu können, wurden vom Verfasser mehr-
fach Versuche mit Sporen durchgeführt, die mit Fluoreszenzfar-
ben angefärbt wurden. Bei der Untersuchung mit dem Fluoreszenz-
mikroskop sind die fluoreszierenden Sporen sehr viel leichter
zu erkennen, weil sie sich vom Untergrund viel besser abheben
als bei der üblichen Methode.

Die Anfärbung geschieht am einfachsten mit dem in der Fluores-
zenzmikroskopie bewährten Acridinorange. Für den Anfärbevorgang
kann folgende Kurzanleitung gegeben werden:

1 kg Lycopodiumsporen werden im 5 l-Becherglas langsam
mit einer Lösung aus 0,1 % Acridinorange und 5 % Deter-
gentien versetzt und durchgeknetet. Dazu wird etwa
3/4 l Lösung verbraucht. Nachdem die Masse homogen ist,
wird weiter Lösung zugegeben, bis sie rührfähig ist.
Gleichzeitig wird langsam erwärmt und schliesslich kurz
aufgekocht. Nach dem Stehen über Nacht wird zweimal mit
Leitungswasser dekantiert. Danach wird 1 l einer 5 %igen
Formalinlösung zugegeben und kurz aufgekocht. Nach wei-
terem zweimaligen Dekantieren mit Leitungswasser wird
die nunmehr intensiv orangefarbene Sporenmasse in Alumi-
niumschüsseln getrocknet.

Am Einspeiseort werden die Sporen wieder mit Wasser zu einem
Brei angerührt und zur Eingabe in den Untergrund durch ein Sieb
passiert.

Die üblichen Vorsichtsmassnahmen gegen Verschleppung, wie sie
in der Fachliteratur erwähnt ist, müssen selbstverständlich
auch hier beachtet werden (ZÖTL J., 1974). Zur Entnahme von
Sporenproben hat BAUER F. (1967) ausführliche Anleitungen ge-
geben.

Für die Bereitung von Untersuchungspräparaten wird ein kleiner
Filtrierapparat verwendet (Fig. 1). Seine zwei Teile werden
durch Spannfedern zusammengehalten. Dazwischen legt man ein

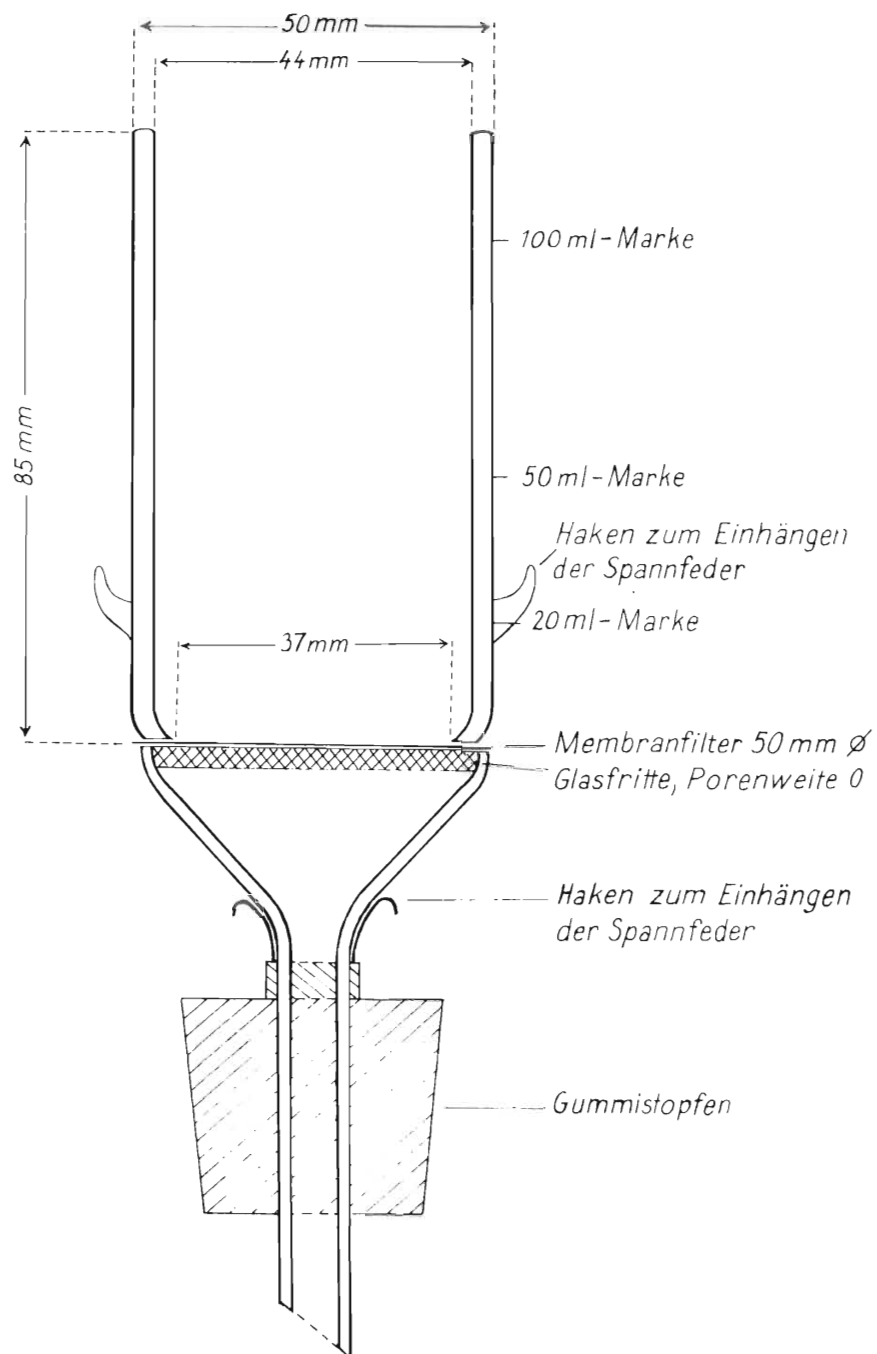


Fig. 1: Filtrierapparat aus Glas zum Absaugen von Planktonnetzproben durch Membranfilter

schwarzes Membranfilter mit Gitternetzaufdruck. Mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe wird soviel an Untersuchungssuspension durchgesaugt, bis eben noch der Gitternetzaufdruck zu erkennen ist. Zweckmässig ist es, die Suspension zuvor durch ein Metallnetz-sieb zu giessen, um gröbere Bestandteile zu entfernen. Diese würden bei stärkeren Vergrösserungen u.U. mit dem Objektiv in Berührung kommen. Das Membranfilter wird nass auf den Objekt-träger gelegt und ohne Deckglas untersucht. Dazu ist ein Kreuz-tisch mit mindestens 50 x 50 mm Beweglichkeit erforderlich. Markierungen am Rand des zylindrischen Trichters mit 20, 50 und 100 ml erleichtern die Berechnung der aliquoten Teile, wenn grössere Sporenzahlen anfallen.

Moderne Fluoreszenzmikroskope enthalten mehrere Anregungs-Fil-ter-Kombinationen. Die beste Untersuchungsbedingung erhält man bei der Anregung 485 nm und Beobachtung durch ein Sperrfilter mit der kurzwelligen Kante bei 510 nm.

Das nicht belegte Membranfilter bleibt tiefschwarz, Substrat er-scheint dunkelbraun. Die mit Acridinorange angefärbten Sporen leuchten hell grüngelb. Sie sind auch bei schwächerer Vergrös-serung rasch erkennbar. Lediglich zur Identifizierung bei Ein-zelvorkommen werden stärkere Vergrösserungen benötigt. Ihre ty-pischen tetraedrischen Formen sind gut zu erkennen. Netzstruk-turen auf den Kalotten beobachtet man selten.

Vereinzelt kommen grüngelb fluoreszierende Mineralkörper vor. Diese fluoreszieren bei UV-Beleuchtung (366 nm) nicht mehr grüngelb, sondern schwach bläulich. Rot fluoreszierende Körner stammen von Chlorophyllkörpern.

Ziel weiterer Versuche ist die Anfärbung mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarben. Dadurch könnten wie bei der Anfärbung mit Pigmentfarben mehrere Einspeisestellen zugleich bedient werden. Trotz mehrerer Anläufe ist es bis jetzt noch nicht gelungen, optische Aufheller mit Lycopodiumsporen zu verbinden. Die Ver-suche werden fortgesetzt.

Literatur:

- BAUER F. (1967): Die Durchführung und Auswertung von Sporen-triftversuchen - Steirische Beiträge zur Hydrogeologie, 1966/67, S. 249-266, Graz
ZÖTL J. (1974): Karsthydrogeologie, Wien