

## 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 Sporeentrift hat sich in zahlreichen Versuchen gut bewährt. Nachdem die Färbelechnik 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 Sporeentriftmethode 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 Sporeentriftversuchen 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 Fluoreszenzfarben angefärbt wurden. Bei der Untersuchung mit dem Fluoreszenzmikroskop 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 Fluoreszenzmikroskopie 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 % Detergentien 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 weiterem zweimaligen Dekantieren mit Leitungswasser wird die nunmehr intensiv orangegelbe Sporenmasse in Aluminiumschüsseln 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 gegeben.

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

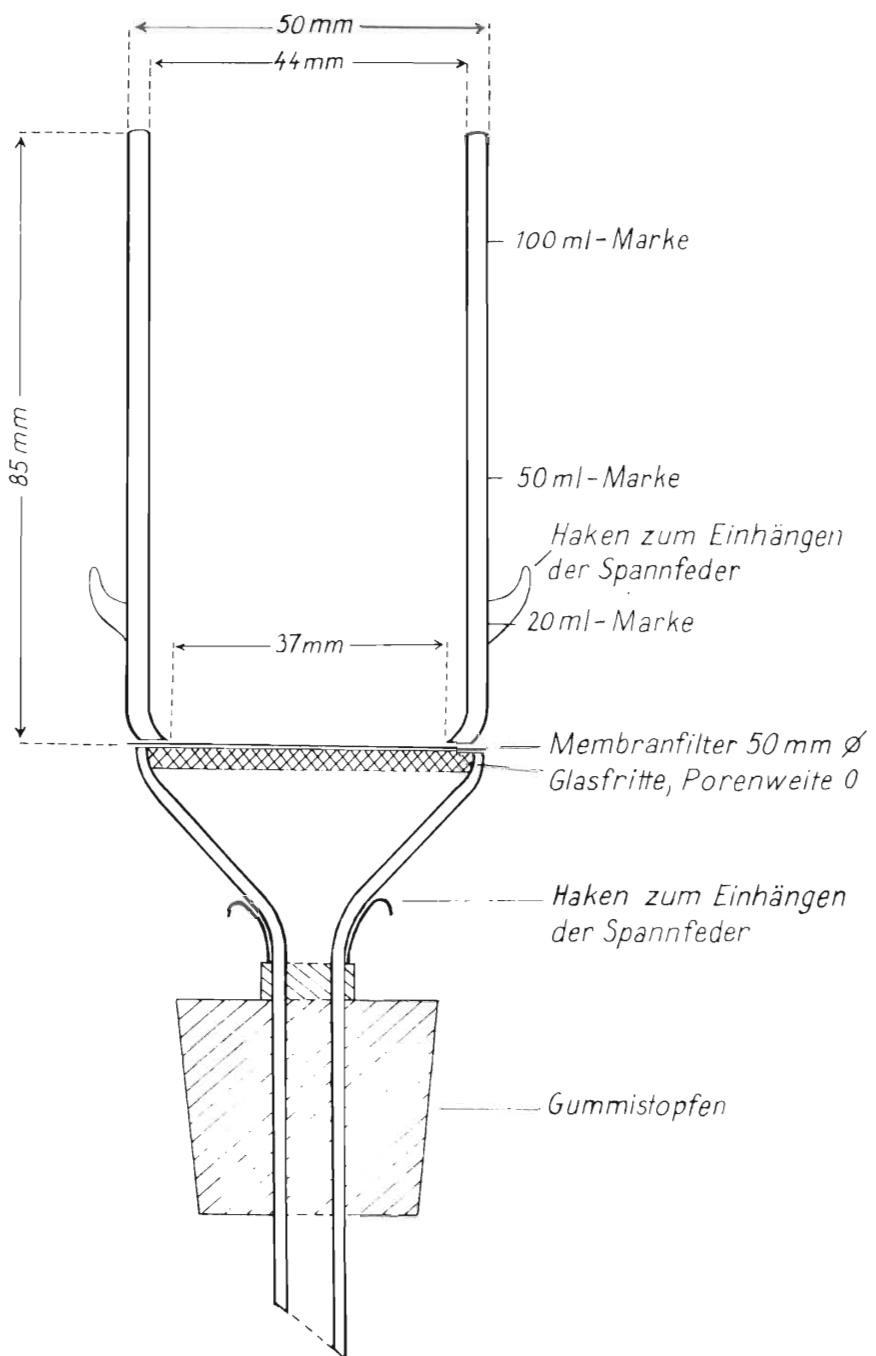


Fig. 1: Filtrierapparat aus Glas zum Absaugen von Planktonnetzproben durch Membranfilter

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 Metallnetzsieb 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 Objektträger gelegt und ohne Deckglas untersucht. Dazu ist ein Kreuztisch 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ター-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 erscheint dunkelbraun. Die mit Acridinorange angefärbten Sporen leuchten hell grüngelb. Sie sind auch bei schwächerer Vergrösserung rasch erkennbar. Lediglich zur Identifizierung bei Einzelvekommen werden stärkere Vergrösserungen benötigt. Ihre typischen tetraedrischen Formen sind gut zu erkennen. Netzstrukturen 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 Fluoreszenzfärbungen. 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 Versuche werden fortgesetzt.

#### Literatur:

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