

Darstellung der Riesenchromosomen bei tiefgefrorenen Chironomus-Larven

In Vererbungs-forschung und Vererbungslehre spielen die Riesenchromosomen eine große Rolle.

Die Bildung von Chromosomen läßt sich in der Regel während der Teilung von Zellen beobachten.

Die DNA-Substanz verdoppelt sich, um sich auf die beiden neuen Zellen gleichmäßig zu verteilen. Hierzu spiralisieren sich die DNA-Filamente, was eine starke Verdickung und Verkürzung zur Folge hat. Durch diese Formveränderung werden sie als Chromosomen im Lichtmikroskop sichtbar.

Nach gleichmäßiger Verteilung der Chromosomen und vollendeter Zellteilung entspiralisieren sich die Chromosomen und bilden den im Lichtmikroskop recht homogen erscheinenden Zellkern.

Es gibt aber auch Zellgewebe, bei denen nach der Verdoppelung der DNA-Substanz keine Zellteilung erfolgt. Hierbei bleiben die neu gebildeten DNA-Stränge nebeneinander liegen. Sie bilden sich nach mehrfacher Verdoppelung dicke Bündel, die im Lichtmikroskop schon bei schwacher Vergrößerung zu erkennen sind: die Riesenchromosomen.

Trotz der großen DNA-Menge, die eine solche Zelle enthält, entspricht das Kern-Plasma-Verhältnis den normalen Zellen. Mit wachsendem DNA-Anteil (also wachsendem Riesenchromosom) vergrößert sich auch das Volumen des Cytoplasmas.

Solche Zellen weisen eine recht große biochemische Aktivität auf. Aufgrund ihres DNA-Gehaltes und ihrer Größe sind sie ideale Untersuchungsobjekte für Gen-Forscher. Aber auch für die Darstellung im Biologieunterricht der Schule eignen sie sich hervorragend.

Riesenchromosomen finden sich in den Zellen der Speicheldrüsen der Taufliege und den Larven der Zuckmücke *Chironomus*. Die *Chironomus*-Larven eignen sich besonders gut.

Vielfach wird darauf hingewiesen, daß *Chironomus*-Larven in der Zoo-handlung als Lebendfutter für Zierfische jederzeit zu bekommen seien. Nach meiner Erfahrung ist dies tatsächlich aber sehr selten der Fall. Problemloser sind die Larven von *Chironomus* als tiefgefrorene Rote Mückenlarven beim Zoohändler für wenig Geld zu erstehen. Dieses Gefriermaterial läßt sich in der Kühltruhe aufbewahren und steht so jederzeit und kurzfristig zur Verfügung.

In der lebenden Zuckmückenlarve bilden die Speicheldrüsen zwei helle Bläschen, die sich in den Körpersegmenten direkt hinter dem Kopf befinden. Die Präparation erfolgt hier durch schnelles Abtrennen des Kopfes mit einem Skalpell oder einer Rasierklinge. Durch den hohen Körperinnendruck treten die Speicheldrüsen aus der Schnittstelle hervor. Nach Auflegen eines Deckglases können sie mit dem Mikroskop betrachtet werden.

Bei den tiefgefrorenen Mückenlarven ist die Präparation nicht ganz so elegant durchzuführen. Für den Biologieunterricht besteht aber hier der zusätzliche Vorteil, daß man sich (und den Schülern) das Töten der Insektenlarven erspart.

Man wählt aus einem Brocken der aufgetauten *Chironomus*-Larven mit einer Präpariernadel große und unbeschädigte Exemplare aus. Die Larven müssen eine dunkelrote Färbung aufweisen. Zwei oder drei Mückenlarven werden mit einer Präpariernadel auf einem Objektträger der Länge nach ausgebreitet.

Bereits jetzt kann man nach Auflegen eines Deckglases bei schwacher Vergrößerung (60×) die Speicheldrüsen mit ihren großen, stark lichtbrechenden Zellkernen erkennen (Bild 1). Das Zellgewebe der Speicheldrüsen ist aber nach dem Gefrier- und Auftauprozess nur schlecht erhalten geblieben, im Gegensatz zu den Zellkernen. Auch das übrige Gewebe der Larven scheint den Gefriervorgang besser zu überstehen.

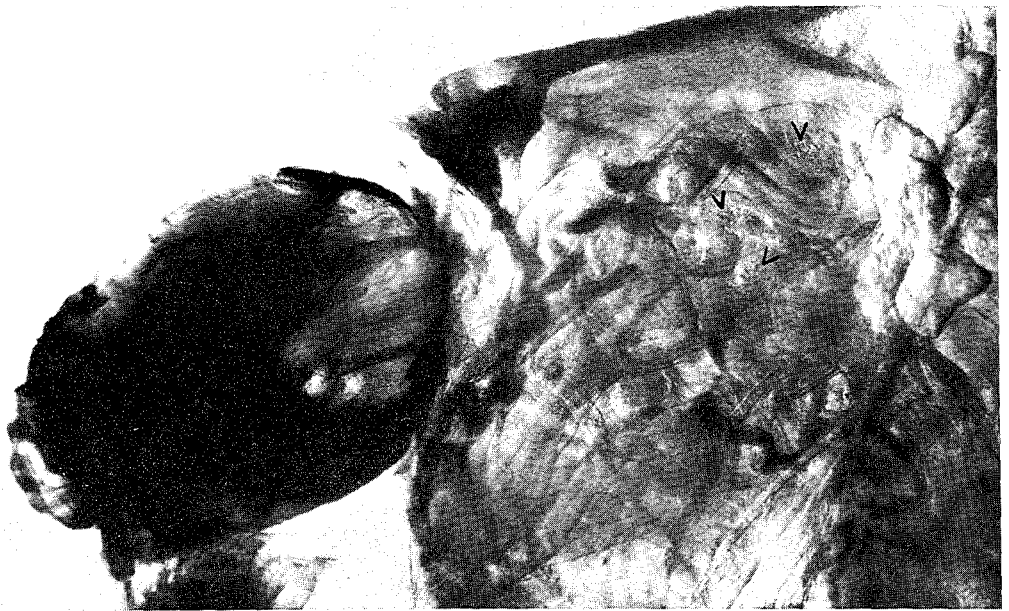


Bild 1: Vorderteil einer tiefgefrorenen *Chironomus*-Larve. Die Pfeile weisen auf Speicheldrüsen-Zellkerne mit Riesenchromosomen hin. Objektiv 5 $\times$. Schräge Beleuchtung.

Nach dem Abtrennen des Kopfes wird ein Deckglas am Hinterende der Mückenlarve aufgelegt und vorsichtig abgesenkt. Der Druck des Deckglases ersetzt den fehlenden Körperinnendruck, so daß das Speicheldrüsen Gewebe am geöffneten Vorderende herausgedrückt wird. Durch vorsichtigen Druck auf das Deckglas kann man nachhelfen.

Die Färbung der Riesenchromosomen erfolgt nach dem einfachen und bewährten Verfahren mit Karmin-Essigsäure.

Hierzu gibt man mit einer Pipette zwei Tropfen der Farblösung unter das Deckglas und erhitzt mit einem Gasfeuerzeug aus etwa 20 cm Abstand, bis die Farblösung zu sieden beginnt. Man hält die Temperatur 10–15 Sekunden so, muß jedoch darauf achten, daß rechtzeitig neue Farblösung zugegeben wird, um ein Eintrocknen zu vermeiden. Kurz vor dem Eintrocknen kann es passieren, daß durch einen Siedeverzug das Deckglas weggeschleudert wird. (Objekträger vom Gesicht fernhalten, Schutzbrille!) Die Färbung der Chromosomen ist nun intensiv genug. Das Deckglas darf jetzt nicht mehr verschoben werden, da die in der Essigsäure der Farblösung fixierten Chromosomen leicht zerrissen werden und aus ihrer natürlichen Lage geraten.

Nach meiner Beobachtung färben sich bei der beschriebenen Behandlung nur das Speicheldrüsen Gewebe und die Riesenchromosomen sowie einige Zellkerne benachbarten Gewebes. Das Speicheldrüsen Gewebe ist als rötlicher, deformierter Schleier leicht aufzufinden. In seiner Umgebung liegen die intensiv gefärbten Riesenchromosomen. Die Chromomerenscheiben lassen sich schon bei schwächerer Vergrößerung eindeutig ausmachen.

Es sei noch erwähnt, daß die aufgetauten Mückenlarven möglichst sofort verarbeitet werden müssen.

Als Anregung möchte ich hinzufügen, daß sich die gefrorenen *Chironomus*-Larven auch für andere Untersuchungen anbieten. So lassen sich der Verdauungstrakt, die aufgenommene Nah-

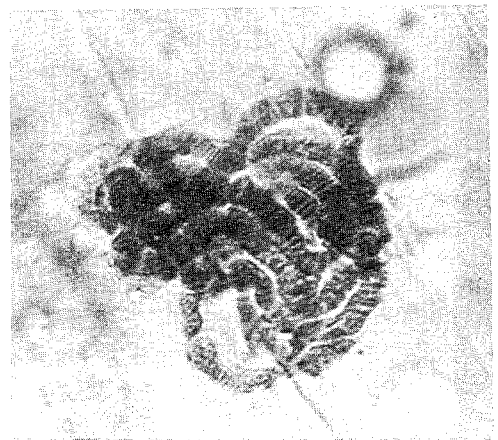


Bild 2: Riesenchromosomen nach Anfärbung mit Karmin-Essigsäure. Objektiv 40 $\times$.

rung (unterschiedliche Algen, die sich noch bestimmen lassen) sowie das Muskelgewebe (deutlich erkennbare, quergestreifte Muskelfasern) und die chitinösen Mundwerkzeuge leicht untersuchen.

Literaturhinweise:

1. BERKALOFF/BOURGET/FAVARD/GUINNEBAULT: Die

Zelle/Morphologie und Physiologie 2. rororo/vierweg.

2. LEZZI/WUHRMANN: Kombinationsschloß am genetischen Safe. Bild der Wissenschaft, Heft 4, April 1979.
3. STEHLI, G.: Mikroskopie für Jedermann. Kosmos Verlag, Stuttgart.

Verfasser: Peter Hoffmann, Gutenbergstr. 10, 478 Lippstadt

Zur Einführung in die Mikroskopie

Hubert Dumann

Oxalatkristalle in Pflanzenzellen

IV. Kristallsand und Raphiden

Mit diesem Bericht ist die Serie unseres Mitarbeiters Hubert Dumann über Oxalatkristalle in Pflanzenzellen abgeschlossen. Gerade diese Arbeit kann als Beispiel dafür dienen, wie wir uns mit wenig Aufwand reizvolle und ergiebige Untersuchungsgebiete erschließen können.

Kristallsand

In einer Reihe von Pflanzen kommt das kristalline Calciumoxalat in Form des Kristallsandes vor. Dieser Kristallsand besteht aus kleinsten kristallinen Körnchen, die aber infolge ihrer Kleinheit die Kristallform nicht mehr erkennen lassen. Kristallsand wird ausschließlich vom Monohydrat des Calciumoxalats gebildet.

Kristallsandhaltige Zellen findet man beispielsweise in den Blättern der Nachtschattengewächse (Solanaceae), etwa der Tollkirsche (*Atropa belladonna*), der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) oder des Tabaks (*Nicotiana*), in Rinde und Blattstielen des Schwarzen Holunders (*Sambucus nigra*) und in der Zuckerrübe (*Beta vulgaris*).

Zur Untersuchung des Kristallsandes besorgen wir uns eines der vorgenannten Objekte. Durch

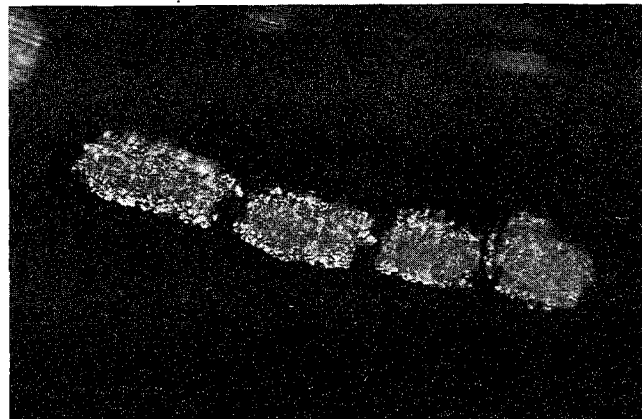
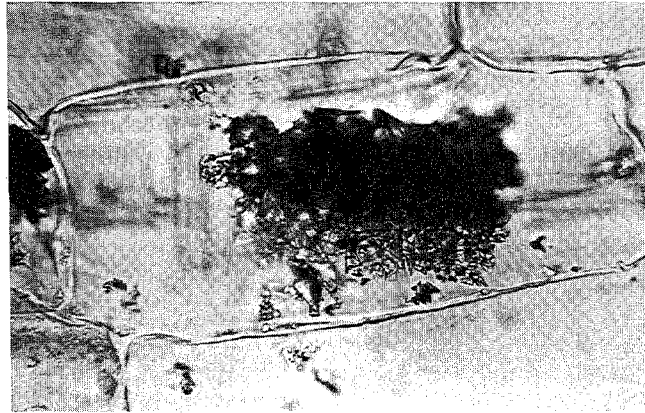


Bild 1: Kristallsandhaltige Zelle im Blattstiel des Holunders (*Sambucus nigra*).

Bild 2: Längsschnitt durch den Blattstiel von *Sambucus nigra* in polarisiertem Licht. Man erkennt eine Reihe kristallsandhaltiger Zellen.