

Von Karl Höfler (Wien)

(Vortrag, gehalten in der Fachgruppe Botanik am 20. April 1948)

Die Fluoreszenzmikroskopie hat für die Botanik wichtige methodische Fortschritte gebracht. Ihre Begründung ist mit dem Namen des Wiener Naturforschers Oberst Dr. h. c. Max Haitinger (1868—1946) dauernd verbunden. Wir unterscheiden mit ihm „primäre“ und „sekundäre“ Fluoreszenz. Im ultravioletten Licht des UV-Mikroskops sieht man schon am frischen, unbehandelten Präparat ein Leuchten, das als primäre oder Eigenfluoreszenz bezeichnet wird. Diese ist schöner und kontrastreicher an pflanzlichen Geweben als an tierischen. Oft ergibt sich ein buntes Farbenbild. Jede verholzte, jede verkorkte Zellwand ist im UV-Licht ohne mikrochemische Untersuchung kenntlich, Chlorophyllkörner erscheinen wie rote Bluttröpfchen, die Endodermen der meisten Farne leuchten in goldgelber Farbe, fluoreszierende Glukoside lassen ihre Lokalisation im Gewebe erkennen.

Noch wichtiger für die Methodik der Zellphysiologie ist die künstlich angeregte, sekundäre Fluoreszenz, die man durch Baden der Schnitte in sogenannten Fluorochromen hervorruft. Sie bietet große methodische Vorteile vor der Hellfeld-Vitalfärbung. Da sie im UV-Licht bei stärkster Verdünnung oft schon nach kurzer Einwirkungszeit sichtbar wird, werden lebensschädliche Wirkungen ausgeschaltet. Vielfach bringt ein chemisch einheitlicher Farbstoff verschiedene Teile des Gewebes oder derselben Zelle zum Leuchten in verschiedenen Farben. — Strugger hat die Methode dieser „Fluoreszenzmetachromasie“ in seinen richtunggebenden Untersuchungen mit der Anwendung von Farbbadereihen abgestufter Wasserstoffionenkonzentration kombiniert und hat damit Ergebnisse von großer Bedeutung erzielt.

Er hat zumal mit Akridinorange, einem von ihm in die botanische Mikrotechnik eingeführten Fluorochrom, einerseits Mikroorganismen (Hefe, Myxomyceten, Bakterien), andererseits Zwiebelhäutchen gefärbt, d. h. Zellen der inneren, leicht abziehbaren Oberhaut der Schuppen unserer Küchenzwiebel. Ich habe diese letzteren Versuche ausführlich wiederholt¹ und Struggers Beobachtungen bestätigt. Die Zellmembranen der Zwiebelhäutchen färben sich bei pH 2,9—6,5 zu leuchtend kupferroter Fluoreszenz, was auf elektroadsorptiver Membranfärbung beruht. Oberhalb dieser pH-Schwelle färben sich die Vakuolen matt kupferrot. Doch hat Strugger nur diese eine Art von Gewebszellen geprüft, und so blieb mir bei der Ausdehnung meiner Versuche auf zahlreiche Zellsorten eine reiche

¹ Höfler, 1948, Einige Nekrosen bei Färbung mit Akridinorange. Sitzungsber. d. Österr. Akad. d. Wissensch., Mathem.-Naturw. Klasse, Abt. I, Bd. 156, S. 585—644.

Nachlese. Die meisten Zellsäfte färben sich nämlich im Gegensatz zum Zwiebelinnenhäutchen nicht zu roter, sondern zu grüner Fluoreszenz. Die Schwelle dieser Grünfärbung liegt aber in der pH-Reihe viel tiefer, bei pH 3 und darunter. Daher kann Struggers Deutung nicht richtig sein, wonach die Färbeschwellen dadurch bedingt wären, daß nur oberhalb von pH 6,5 die Farbmoleküle permeieren, unter dieser Grenze aber die Färbung deshalb unterbleibe, weil die dort allein vorhandenen Farbionen nicht bis in den Zellsaft zu permeieren vermögen. Denn aus der Tatsache der Grünfärbung der meisten Zellsäfte bis auf pH 3 bis 2 herab. folgt zwingend, daß der Farbstoff auch aus den sauren Farbbädern in die Zellen, und zwar bis in die Vakuolen vordringen muß. Es sind vielmehr in den grünen Zellsäften gewisse Inhaltsstoffe vorhanden, die sich mit dem eindringenden Farbstoff chemisch verbinden, wobei durch Lösungsspeicherung die Anreicherung und grüne Fluoreszenzfarbe zustande kommt. Im Falle der kupferroten UV-Färbung, die ich außer bei *Allium* u. a. in Zellsäften der Blattepidermen von *Orchis maculata* fand, fehlen solche Speicherstoffe. Die Färbung kommt hier anders zustande. Die Moleküle der Farbbase permeieren aus neutraler und alkalischer Außenlösung durch das Plasma bis in den Zellsaft. Da dieser sauer ist, dissoziieren sie zu Ionen. Es bleibt dauernd ein Gefälle bestehen und neue Moleküle treten ein. Die Farbkationen, an das wässrige Medium gebunden und in Lipoiden unlöslich, können durch das Plasma nicht wieder exosmieren, und so wirken die leicht sauren Zellsäfte als „Ionenfallen“. Es ist eine schöne Leistung der Fluorochromtechnik, daß die rote Ionenfärbung der speicherstofffreien („leeren“) Zellsäfte und die gelbgrüne Färbung durch chemische Bindung der speicherstoffführenden („vollen“) Zellsäfte nach Akridinorange-Behandlung im UV-Licht direkt unterschieden werden kann. Andere Fluoreszenz- und Hellfeldfarbstoffe ergeben analoge, metachromatisch differenzierte Färbungen.

Durch Fluoreszenzfärbung von Zwiebelhäutchen mit Pyronin ist Struggler (1941) zur Annahme einer Ionenintransibilität der Protoplasten geführt worden. Ich habe auch die Pyroninfärbungen auf zahlreiche Zellobjekte ausgedehnt und konnte Struggers Auffassung nicht bestätigen. Dies ist wichtig für protoplasmatische Fragen, denn man hätte sonst mit Struggler die Existenz relativ weiter, wassererfüllter Poren, durch welche die in Lipoiden unlöslichen Farbkationen ins Plasma dringen, und damit die Grundvorstellung der Ruhlandschen Ultrafiltertheorie anerkennen müssen. Tatsächlich lassen sich aber wohl alle Ergebnisse basischer Vitalfärbung durch Aufnahme lipophiler Moleküle, also allein auf Grund der Overtonschen Lösungstheorie verstehen.

Als Ergebnis der jüngsten, gemeinsam mit L u h a n und T o t h im Wiener Pflanzenphysiologischen Institut durchgeführten (in der Zeitschrift „Protoplasma“ zu veröffentlichenden) Versuchsreihe sei schließlich die

Klärung der Struggerschen Kernfärbungen mit Akridinorange erwähnt. Strugger meint, daß sich mit diesem Farbstoff lebende Zellkerne zu grüner, tote zu roter Fluoreszenz anfärben, und sucht darauf eine Lebensreaktion zu gründen. Ich hatte aber gefunden, daß auch tote Kerne und Plasmen nach Akridinorange-Behandlung oft grün leuchten. Nun hat sich weiter erweisen lassen, daß die Rotfärbung toter Kerne einfach auf elektro-adsorptiver Farbspeicherung, die Grünfärbung, die mit dem Lebenszustand nichts zu tun hat, auf chemischer Farbbindung beruht. Setzt man zu gefärbten Präparaten CaCl_2 -Lösung, so verschwindet — durch Kationenverdrängung — nicht nur die gleißend rote Färbung der Zellmembranen, sondern auch die toten, roten Zellkerne verfärben sich augenblicklich nach Grün.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark](#)

Jahr/Year: 1949

Band/Volume: [77_78](#)

Autor(en)/Author(s): Höfler Karl

Artikel/Article: [Fluoreszenzmikroskopie und Zellphysiologie \(Vortrag\). 164-166](#)