©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 18	Fasc. 3—4	199—208	18. 5. 1978

Fluorometrische Untersuchungen zur Aufnahme von Humin-Komponenten durch die Pflanzenzelle

Von

Otto HÄRTEL *) und Johann HINTEREGGER

Eingegangen am 10. Juni 1977

Zusammenfassung

Mit spektrophotometrischer Methodik konnte gezeigt werden, daß niedrigmolekulare Fraktionen von Huminstoffen (Fulvosäuren, Huminsäuren MG $< \sim 15.000$) den Metachromasiegrad der Fluoreszenz des in Epidermen der Küchenzwiebel (*Allium cepa*) vital gespeicherten Acridinorange in ähnlicher Weise mindern, wie dies in Acridinorange-Huminstoff-Gemischen *in vitro* der Fall ist. Obwohl auch höhermolekulare Fraktionen von Huminsäuren (MG $> \sim 15.000$) die Fluoreszenz von Acridinorange-Lösungen in ähnlicher Weise vermindern, bleibt eine vergleichbare Wirkung auf die fluorochromierte Pflanzenzelle aus. Auch die Toxität solcher höhermolekularen Huminsäure-Lösungen gegenüber den fluorochromierten Pflanzenzellen ist wesentlich geringer. Die Ergebnisse bestätigen die Möglichkeit des Eindringens von Huminstoffen in die Pflanzenzelle, wie dies schon frühere Untersuchungen nahelegen und zeigen, daß die Aufnahme auf die kleinmolekularen Fraktionen beschränkt ist.

Summary

As it is confirmed by spectrophotometric method, the degree of the fluorescence metachromasy of acridin orange accumulated in the epidermal cells of *Allium cepa* by vital staining, is diminished significantly after bathing the epiderms in solutions of both fulvic acids and humic acids of lower molecular weights. This effect is in accordance with the change of the fluorescence of acridin orange solutions altered by adding humic acids *in vitro*. On the contrary, solutions of higher molecular weights (MG $> \sim 15.000$) do not alter the fluorescence of vital stained cells although the fluorescence *in vitro* is also reduced by adding solutions of this fraction.

*) Prof. Dr. Otto HÄRTEL, Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen an der Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

They also show a lower toxicity to stained cells than solutions of low molecular humic acids. These results confirm the possibility of the resorption of humic acids by plant cells as suggested in earlier papers, and indicate that the uptake is restricted to its lower molecular fractions.

1. Einleitung

Die Fluoreszenz von Acridinorange-Lösungen erwies sich bereits mehrfach als brachbarer Indikator für Huminsäure. MICHEL 1962, 1963a, b beobachtete, daß Huminsäuren *in vitro* die Fluoreszenz von Acridinorange unter Bildung eines Acridinorange-Humat-Komplexes zu löschen vermögen; da die Fluoreszenz auch in auffälliger Weise von kupferrot nach trübgrün umschlägt, wenn mit Acridinorange fluorochromierte Pflanzenzellen mit Huminsäurelösungen behandelt werden, schloß MICHEL auf die Möglichkeit des Eindringens dieser großmolekularen Stoffe in die Pflanzenzelle. In huminsäurehaltigen Nährlösungen gezogene Haferkeimlinge, nicht aber huminsäurefreie Kontrollen, scheiden mit ihrem Guttationswasser fluoreszenzlöschende Stoffe aus, bei denen es sich somit nur um aufgenommene Huminsäure handeln kann (EDER 1970, EDER & HÄRTEL 1976). Die durch Chromotrope, u. a. durch Huminsäure, hervorgerufene Metachromasie vital gefärbter Zellen nutzten HÄRTEL & THALER 1966 sowie PROSKE 1967 (unveröffentlicht) zum Nachweis des Eindringens dieser, mit anderen Mitteln in geringsten Mengen kaum lokalisiert nachweisbaren Stoffe in die Zellen (über Metachromasie vgl. KINZEL 1959).

Es schien daher geboten, die subjektiven Beobachtungen MICHELS durch mikrospektralphotometrische Messungen der Fluoreszenz und ihrer Metachromasie zu ergänzen. In diesem Zusammenhang sollte auch das Verhalten einzelner Huminstoff-Fraktionen hinsichtlich ihrer metachromatischen Wirksamkeit und ihrer Fähigkeit, in die pflanzlichen Zellen einzudringen, untersucht werden.

2. Material und Methoden

Die Versuche wurden an Außen- und Innenepidermen anthozyanfreier Küchenzwiebeln (*Allium cepa*) durchgeführt. Für die Ansätze einer Versuchsreihe wurden die Proben jeweils von ein und derselben Zwiebel nach der Vorschrift von STRUGGER 1949 entnommen.

Das Acridinorange-Präparat (FLUKA, Chargen-Nr. 36857, im Folgenden mit AO abgekürzt) war, wie Vorversuche zeigten, praktisch frei von Verunreinigungen durch andere Farbstoffe und konnte daher ohne vorhergehende Reinigung verwendet werden. Die Gebrauchslösungen wurden aus einer alle zwei Wochen erneuerten Stammlösung 1 : 1000 durch Verdünnen mit Puffer (s. u.) hergestellt.

Die zur Verfügung stehenden Huminsäure-Präparate des Handels enthielten keine Fulvosäuren, weshalb die Huminkomponenten aus Wald-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

boden (in Anlehnung an SOUCI 1938, MEHTA, DUBACH & DEUEL 1963) extrahiert wurden. 240 g trockene feingesiebte Buchenwalderde (A_1-Horizont) wurden mit entsalztem Wasser teigig angerührt und zur Entfernung der Kationen zweimal mit 2 l 2%iger HCl aufgeschlämmt (SOUCI 1938). Der Rückstand wurde mit 10 l 0,1 M Na-Pyrophosphat-Lösung (PP) digeriert. 250 ml des schwarzbraunen Extraktes wurden mit HCl auf pH = 1 gebracht und die ausgefallenen Huminsäuren abgenutscht. Das klarzentrifugierte Filtrat wurde auf eine mit Sephadex G-15 medium beschickte Säule gebracht. Ausbeute aus 250 ml PP-Extrakt 0,6 g salzfreie Fulvosäure (abgek. FS).

Der die Huminsäuren (abgek. HS) enthaltende Filterrückstand wurde mit 0,1 M PP aufgenommen und zwei Wochen gegen entsalztes Wasser dialysiert. Ausbeute aus 250 ml Extrakt 0,6 g trockene Huminsäure. Um die so erhaltene HS (MG >1.500) weiter in eine größer- und eine kleinermolekulare Fraktion zu zerlegen, wurde eine 0,33%ige Lösung in 0,05 M PP durch eine mit Sephadex G-50 medium beschickte Säule laufen gelassen. Die sicher nur niedrigdisperse HS enthaltenden Fraktionen 1 und 2 wurden vereinigt, ebenso die hauptsächlich höherdisperse HS enthaltenden Fraktionen ab der vierten; die Lösungen wurden getrennt dialysiert und bei 30° eingeengt. Die Ausbeute betrug etwa 80% des Einsatzes an HS.

Von den Huminstoffpräparaten wurden Stammlösungen 1 : 500 in 0,05 M PP hergestellt; die jeweils benötigten Lösungen wurden durch Verdünnen mit Phosphatpuffer (vgl. STRUGGER 1949) bereitet. Die Versuche wurden einheitlich in 1/150 M Puffer bei pH = 7 durchgeführt (Kontrolle mittels Glaselektrode). Sämtliche Konzentrationsangaben sind Endkonzentrationen.

Für die spektralphotometrischen Messungen wurde ein Forschungsmikroskop „Zetopan" in Verbindung mit einem Mikroskopspektralphotometer der Fa. Reichert in der Ausrüstung für Blaulichterregung benutzt. Da das überaus zeitaufwendige Aufstellen von Fluoreszenzspektren durch schrittweisen Vergleich mit einem Standard die Gefahr von Unsicherheiten (Strahlenbelastung des Objekts, Asphyxie usw.) birgt, wurden aus den spektralen Charakteristiken der Optik, der Filter und des Photomultipliers für Abstände von jeweils 10 nm die Faktoren errechnet, mit denen aus der Anzeige des Gerätes unmittelbar vergleichbare Fluoreszenzhelligkeiten erhalten werden konnten. Aus der Literatur bekannte Fluoreszenzspektra, so auch von Acridinorange, waren so durchaus befriedigend reproduzierbar. In weiterer Folge konnte auf die Aufnahme vollständiger Fluoreszenzspektra überhaupt verzichtet werden. Es genügten zwei Wellenlängen, um die Fluoreszenzspektra zu kennzeichnen, nämlich 650 nm, das Fluoreszenzmaximum F_D der aggregierten AO-Moleküle, sowie bei 535 nm, dem Schwerpunkt der Fluoreszenz nicht aggregierter Moleküle (der Monomeren $= F_M$, ZANKER 1952a, b, SCHEIBE & ZANKER 1958). Der Quotient aus den

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

beiden Ablesungen ergibt den Metachromasiegrad $M_{D(fl)} = F_D/F_M$. Dadurch konnte auch die Strahlenbelastung des Objekts niedrig gehalten werden. Die durch das Blausperrfilter gegebene untere Grenze der Meßmöglichkeit bei 530 nm fiel nicht ins Gewicht.

Die Fluoreszenz von Farbstoff-Huminsäure-Gemischen wurde in deckglasdicker Schicht mit dem gleichen Gerät gemessen. An Schnitten wurde bei gleicher Vergrößerung eine größere Zahl von Zellen erfaßt, wodurch die Streuungen der Meßwerte geringer gehalten werden konnten. Selbstverständlich wurde streng darauf geachtet, daß nur völlig intakte und gleichmäßig gefärbte Zellen ins Meßfeld zu liegen kamen, Zellen aus der Nähe der Wundränder wurden nicht berücksichtigt. Die angegebenen Werte stellen die Mittel aus mindestens 10, meist aber mehr (in der Regel 25) Einzelmessungen dar.

3. Ergebnisse

3.1. Fluoreszenzmetachromasie von AO-Lösungen + Huminkomponenten

Mit Hilfe der in Kap. 2 beschriebenen Methode ergaben sich für AO-Lösungen folgende Werte der Fluoreszenzmetachromasie $M_{D(fl)} = F_{650}/F_{335}$:

Tabelle 1

Fluoreszenzmetachromasie von AO-Lösungen verschiedener Konzentration

AO 1 :. 200	$M_{D(fl)} = 6{,}37$	Fluoreszenz rot
AO 1 : 1.000	$M_{D(fl)} = 0{,}67$	Fluoreszenz grünorange
AO 1 :.10.000	$M_{D(fl)} = 0{,}05$	Fluoreszenz grüngelb.
AO 1 : 20.000	$M_{D(fl)} = 0{,}01$	Fluoreszenz grün

Eine ähnliche Abnahme der Metachromasiegrade läßt sich durch Zusatz der Chromotrope Fulvosäure bzw. Huminsäure (unfraktioniert) zu AO-Lösungen höherer Konzentration herbeiführen:

Tabelle 2

Fluoreszenzmetachromasie von AO 1 : 10.000 nach Zusatz der Chromotrope Fulvosäure bzw. Huminsäure (unfraktioniert)

Chromotrop	Metachromasiegrad $M_{D(fl)}$ FS	HS
AO 1 :.1.000 ohne Chromotrop	0,61	0,61
AO 1 : 1.000 + Chromotrop 1 : 10.000	—	0,52
AO 1 : 1.000 + Chromotrop 1 : 5.000	0,58	0,31
AO 1 : 1.000 + Chromotrop 1 : 2.000	0,20	—
AO 1 : 1.000 + Chromotrop 1 : 1.000	0,11	0,00

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Huminsäure scheint demnach deutlich stärker metachromatisch wirksam zu sein als Fulvosäure. Bei Einsatz von AO 1 : 200 mit einem Metachromasiegrad von 6,37 verringert FS 1 : 1.000 diesen auf 4,30, HS in gleicher Konzentration hingegen auf 0,46; in beiden Fällen tritt grobflockiger Niederschlag auf, während die Ansätze mit AO 1 :.1.000 nur ganz leicht trüb bleiben.

Auch die mittels Gelfiltration erhaltenen HS-Fraktionen unterschiedlicher Teilchengröße erwiesen sich von nur wenig verschiedener metachromatischer Wirksamkeit, wie Tabelle 2b zeigt.

Tabelle 2b

Fluoreszenzmetachromasie von AO 1 : 1.000 nach Zusatz niedrig bzw. höherdisperser HS

	Metachromasiegrad $M_{D(fl)}$	
	niedrigdispers	höherdispers
AO 1 : 1.000	0,61	0,61
AO 1 : 1.000 + HS 1 : 10.000	0,55	0,42
AO 1 : 1.000 + HS 1 : 5.000	—	0,38
AO 1 : 1.000 + HS 1 : 1.000	0,00	0,00

Der Metachromasiegrad einer AO-Lösung 1 : 200 $M_{D(fl)}$ = 6,37 wird durch die hochdisperse Fraktion 1 :.1.000 auf 3,50 ,durch die grobdisperse auf fast den gleichen Wert, nämlich 3,46 herabgesetzt, in beiden Fällen wieder unter Auftreten eines starken Niederschlages.

3.2. Versuche an Zwiebelepidermen

Der Einfluß der Chromotrope auf mit AO vitalfluorochromierte Zwiebelzellen wurde sowohl an Epidermen der Außen- als auch der Innenseite untersucht. Subjektiv erschienen die fluorochromierten Außenwandepidermen nach dem Baden in den Chromotropen in kaum verändertem Farbton, die Innenepidermen hingegen nahmen dabei eine stumpfgrüne Fluoreszenzfarbe an (vgl. Michel 1961, 1962a, b); dieser Effekt blieb jedoch in Lösungen grobdisperser HS aus. Die fluorometrische Messung der Metachromasiegrade ergab folgendes (Tabelle 3).

Den Ansätzen a)—c) ist gemeinsam, daß die Chromotrope, u. zw. Fulvosäure, Huminsäure unfraktioniert und Huminsäure feindispers, den Metachromasiegrad AO-fluorochromierter Zwiebelzellen erniedrigen. Dies gilt auch für die Zellen der Außenepidermen. Die Abnahme der Metachromasiegrade der mit den Chromotropen behandelten Epidermen gegenüber den unbehandelten bzw. den Pufferkontrollen ist mit p =

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 3

Allium cepa: Fluoreszenzmetachromasie der Epidermiszellen nach Behandeln mit Fulvo- und Huminsäure-Lösungen

	Metachromasiegrad $M_{D(fl)}$ Außenepidermis	Innenepidermis
a) Fulvosäure		
1) AO 1 : 5.000, 10 min	0,39±0,07	4,9±1,1
2) wie 1), hierauf FS 1 : 5.000 60 min	0,27±0,06	3,5±0,8
3) wie 1), hierauf Puffer 90 min	0,38±0,10	4,9±1,3
b) Huminsäure, nicht fraktioniert		
1) AO 1 :.10.000, 10 min	0,29±0,08	1,8±0,4
2) wie 1), hierauf HS 1 : 5.000 60 min	0,11±0,07	1,2±0,2
3) wie 1), hierauf Puffer 90 min	0,29±0,05	2,1±0,2
c) Huminsäure, feindispers		
1) AO 1 : 10.000, 10 min	0,29±0,11	2,9±0,5
2) wie 1), hierauf HS 1 :.5.000 60 min	0,11±0,04	2,5±0,4
3) wie 1), hierauf Puffer 90 min	0,29±0,07	4,3±0,7
d) Huminsäure, grobdispers		
1) AO 1 : 10.000 10 min	0,34±0,06	2,2±0,5
2) wie 1), hierauf HS 1 : 5.000 60 min	0,36±0,09	2,1±0,4
3) wie 1), hierauf Puffer 90 min	0,39±0,12	2,1±0,4

0,5—1% signifikant, im Versuch b) der Tabelle 4, Außen- wie Innenepidermen, und im Versuch c), Außenepidermen, sogar besser als 0,5% (t-Test n. STUDENT). Hingegen vermag die grobdisperse Fraktion der Huminsäure (Versuch d) den Metachromasiegrad nicht zu beeinflussen.

Gleichsinnig mit den Metachromasiegraden verringern sich unter dem Einfluß von Huminstoffen auch die Extinktionen der vitalfluorochromierten Zellen. Nachstehende Tabelle 4 gibt die Extinktionswerte bei 505 nm,

Tabelle 4

Allium cepa: Metachromasiegrade M_D (AO als Diachrom) und Extinktionswerte E_{505} fluorochromierter Epidermen nach Behandlung mit HS (pH = 7,0)

	Außenepidermis		Innenepidermis	
	M_D	E_{505}	M_D	E_{505}
1) AO 1 : 10.000, 15 min	0,86	0,85	1,78	0,17
2a) wie 1), hierauf HS 1 : 10.000, 120 min	0,73	0,48	1,30	0,02
2b) wie 1), hierauf Puffer pH = 7,0, 120 min	0,90	0,96	1,60	0,13

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

d. i. im Bereich der sog. V-Bande (= Verbindungsbande), wieder, ferner sind die Metachromasiegrade der fluorochromierten Zellen für durchfallendes Licht $M_D = E_{475}/E_{490} = E_D/E_M$ angeführt (vgl. KINZEL 1959, DRAWERT 1968).

Die Abnahme ist, wie die Pufferkontrollen zeigen, keinesfalls auf eine einfache Auswaschung zurückzuführen. Die Änderungen der Metachromasiegrade entsprechen ihrem Sinne nach denen der Fluoreszenzmetachromasie, sind aber bedeutend weniger ausgeprägt. Unterschiedliche Ergebnisse, die mit verschiedenen Zwiebeln erhalten wurden, mahnen indes zur Vorsicht bei der Interpretation. Hohe Werte für die positive Metachromasie im Bereich der V-Bande (in der Tabelle 4 nicht angeführt), die auf die Bindung des AO an zelleigene Flavone zurückgeht (KINZEL 1959), legen unterschiedliche Flavongehalte der Zwiebeln als Ursache für den uneinheitlichen Versuchsfall nahe.

4. Diskussion

Die mitgeteilten Versuchsergebnisse zeigen, daß Fulvosäure und unfraktionierte Huminsäure bzw. auch deren höherdisperse Fraktion die Fluoreszenzintensität im Bereich der D-Bande (= Dimeren-Bande) *in vitro* wie *in vivo* signifikant mindern. Diese Fluoreszenzmetachromasie ist besonders an den Innenepidermen von *Allium cepa* am Farbumschlag der Fluoreszenz von rot nach grün erkennbar; an den Außenepidermen ist ein derartiger Farbumschlag subjektiv kaum wahrnehmbar, obwohl er objektiv eindeutig vorhanden ist. Offenbar vermag das Auge mit seinem Empfindlichkeitsmaximum im grünen Spektralbereich die Veränderung der Rotkomponente der Vakuolenfluoreszenz nicht wahrzunehmen.

Absorptionsmessungen im Bereich der M- und der D-Banden des Acridinorange und die daraus berechneten Metachromasiegrade geben bei weitem nicht so eindeutige Resultate wie die Fluoreszenzmessungen. Offenbar spricht unter den gewählten Versuchsbedingungen die Fluoreszenz des Acridinorange empfindlicher auf Veränderungen der Relation von Monomeren zu Dimeren an als die Extinktion.

Einfache Auswaschung reicht zur Erklärung der Abnahme der Extinktionswerte und der Metachromasiegrade nicht aus, wie die Pufferkontrollen lehren. Eher wäre an eine Aufhebung des Ionenfallenmechanismus zu denken, wie dies für Coffein- oder Tannin-Farbstoff-Komplexe beobachtet werden konnte (FLASCH 1955, HÄRTEL & THALER 1966). Abgesehen davon, daß diese Erklärungsmöglichkeit auf die Außenepidermen schwer anwendbar ist, gelingt es auch an Innenepidermen nicht, den Farbstoff mit HS völlig aus den Zellen zu entfernen; sie behalten selbst nach Behandeln mit verd. NH_4OH eine grüne Restfluoreszenz, während Pufferkontrollen dabei völlig fluoreszenzfrei werden (MICHEL 1962). In HS vorgebadete Innenepidermen vermögen gleichfalls AO zu speichern, allerdings nur zu

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

grüner Fluoreszenz (MICHEL 1962, HINTEREGGER 1972); Voraussetzung hiefür ist wohl, daß HS in die Zellen eingedrungen sein muß.

Eine Erklärung für die auffallend hohen $M_{D(fl)}$-Werte der Pufferkontrollen in Tabelle 3, Versuch b) und c) ergab sich aus dem Fluoreszenzbild selbst. In den mit HS behandelten Epidermen wie in den Pufferkontrollen waren gleicherweise etwa 40% der Zellen geschädigt. Der von solchen geschädigten Zellen in die Pufferlösung abgegebene Farbstoff wird von den umliegenden intakten Zellen aufgenommen, wobei sich deren Extinktion wie Metachromasiegrad erhöht. In der HS-Flotte hingegen wird der freiwerdende Farbstoff sofort an HS gebunden; AO-HS-Komplexe können aber nicht mehr durch eine Dialysemembran diffundieren (MICHEL 1962, 1963b) und werden auch von der Pflenanzelle nur in ganz geringfügigem Maße aufgenommen (HINTEREGGER 1972).

Die niedrigeren Metachromasiewerte der mit FS und HS (mit Ausnahme ihrer grobdispersen Fraktionen) behandelten Zellen sind jedenfalls statistisch gesichert. Zellschädigung kann nicht als primäre Ursache für die an den Innenepidermen beobachteten Metachromasieunterschiede angesehen werden. Die Außenepidermen werden weder durch HS noch durch Puffer erkennbar geschädigt, zeigen aber gleichsinnige und ebenso signifikante Metachromasieunterschiede. Die recht einheitlichen Standardabweichungen der Metachromasiegrade in Tabelle 3 belegen, daß die Werte keinesfalls an unregelmäßig geschädigtem Material erhalten worden sind.

Eindeutig ist auch das unterschiedliche Verhalten der klein- und der großmolekularen HS-Fraktion. Die kleinmolekulare, also höherdisperse HS-Fraktion (unterhalb der Ausschlußgrenze von Sephadex G-50, etwa MG $<\sim 15.000$) wirkt auf die AO-fluorochromierten Zellen wie unfraktionierte HS oder wie Fulvosäure. Die durch Sephadex G-50 hindurchlaufende Fraktion (MG $>\sim 15.000$) verändert die Fluoreszenz *in vivo* nicht, während sie sich diesbezüglich *in vitro* von der niedermolekularen nicht unterscheidet. Bemerkenswert ist auch, daß Lösungen dieser Fraktion auch die Innenepidermen in keiner Weise erkennbar schädigen. Offenbar geht die Fluoreszenzlöschung durch Huminsäure *in vivo* auf deren niedermolekulare Fraktionen zurück, großmolekulare Fraktionen können demnach nicht mehr in die Zellen eindringen.

Über den Aufnahmemechanismus bzw. die Lokalisation der Barriere für großmolekulare Huminsäuren können auf Grund der vorliegenden Untersuchungen noch keine Aussagen gemacht werden. Die Beobachtungen EDERS 1970 (vgl. auch EDER & HÄRTEL 1976) könnten durch Verstopfungseffekte in den Zellwänden zwanglos erklärt werden. Anderseits können auch wesentlich größere Moleküle in die Pflanzenzelle aufgenommen (z. B. Heparin, THALER 1964, vgl. auch EDER & HÄRTEL 1976) bzw. im Mesophyll über längere Strecken transportiert werden (z. B. Schleimstoffe, HODGSON, PETERSON & RIKER 1949, vgl. auch RUDOLPH 1976);

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

gleiches gilt für den Transport elektronenmikroskopisch darstellbarer Goldsolteilchen bis ca. 10 nm Durchmesser (STRUGGER & PEVELING 1961). Diese Frage bedarf also noch weiterer Untersuchungen.

Danksagung

Diese Untersuchungen hat der Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung in Wien durch Beistellen von Geräten gefördert, wofür auch an dieser Stelle verbindlichst gedankt sei.

Schriftenverzeichnis

DRAWERT H. 1968. Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen und Gewebe. In: Protoplasmatologia (Hg. HEILBRUNN O. & WEBER F.), 2 D 3. — Wien—New York.

EDER J. 1970. Zur Frage der Aufnahme von Huminsäure durch Pflanzen. — Diss. Graz.

— & HÄRTEL O. 1976. Nachweis der Aufnahme von Huminsäure durch die Pflanze mittels Metachromasie von Acridinorgange. — Phyton 17: 255—264.

FLASCH A. 1955. Die Wirkung von Coffein auf vitalgefärbte Pflanzenzellen. — Protoplasma 44: 314—421.

HÄRTEL O. & THALER I. 1966. Mikrospektralphotometrische Studien zur Metachromasie vitalgefärbter Zellen. — Protoplasma 62: 356—374.

HINTEREGGER J. 1972. Absorptions- und emissionsphotometrische Untersuchungen über die Aufnahme von Huminstoffen durch Zwiebelzellen. — Diss. Graz.

HODGSON R., PETERSON W. H. & RIKER A. J. 1949. The toxicity of polysaccharides and other large molecules to tomato cuttings. — Phytopath. 39: 47—62.

KINZEL H. 1959. Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe. — Protoplasma 50: 1—50.

MEHTA N. C., DUBACH P. & DEUEL H. 1963. Untersuchungen über die Molekulargewichtsverteilung von Huminstoffen durch die Gelfiltration mit Sephadex. — Z. Pfl.Ern. Düngg. Bodenkde. 102: 128—137.

MICHEL E. 1962. Fluorochromierung pflanzlicher Zellen in Gegenwart von Huminsäure. — Diss. Graz.

— 1963a. Zur Analyse der Vitalfärbung in Gegenwart von Huminsäure. I. Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen. — Protoplasma 56: 466—490.

— 1963b. Zur Analyse der Vitalfärbung in Gegenwart von Huminsäure. II. Wechselwirkung zwischen Farbstoffen und Huminsäuren. — Protoplasma 56: 583—604.

PROSKE E. 1967. Mikrospektralphotometrische Messungen der Metachromasie vitalgefärbter Zellen. — Diplomarbeit Univ. Graz.

RUDOLPH K. 1976. Non-specific toxins. In: Physiological plant pathology (HEITEFUSS R. & WILLIAMS P. H. eds.). — Encycl. plant physiol. 4: 270—315. — Berlin—Heidelberg—New York.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

SCHEIBE G. & ZANKER V. 1958. Physikochemische Grundlagen der Metachromasie. — Acta histochem. Suppl. 1: 6—37.

SOUCI S. W. 1938. Die Chemie des Moores. — Stuttgart.

STRUGGER S. 1949. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Aufl. — Berlin—Göttingen—Heidelberg.

— & PEVELING E. 1961. Die elektronenmikroskopische Analyse der extrafasziculären Komponente des Transpirationsstromes mit Hilfe von Edelmetallsuspensoiden adäquater Dispersität. — Ber. dtsch. bot. Ges. 74: 300—304.

THALER I. 1964. Wirkung des Heparins auf die Pflanze. — Phyton 11: 108—120.

ZANKER V. 1952a. Über den Nachweis definierter reversibler Assoziate („reversible Polymerisate") des Acridinorange durch Absorptions- und Fluoreszenzmessungen in wässriger Lösung. — Z. physik. Chem. 199: 255—258.

— 1952b. Quantitative Absorptions- und Emissionsmessungen am Acridinorangekation bei normal- und Tieftemperatur im organischen Lösungsmittel und ihr Beitrag zur Deutung des metachromatischen Fluoreszenzproblems. — Z. physik. Chem. 200: 250—292.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: 18_3_4

Autor(en)/Author(s): Härtel Otto, Hinteregger Johann

Artikel/Article: Fluorimetrische Untersuchungen zur Aufnahme von Huminsäure-Komponenten durch die Pflanzenzelle. 199-208