

Phyton (Austria)	Vol. 17	Fasc. 3-4	233-246	18. 8. 1976
------------------	---------	-----------	---------	-------------

Mikrospektralphotometrische Untersuchungen an lebenden Zellen der Schuppenblattoberepidermen von *Allium cepa* nach Brillanteresyblau-Färbung

Von

Ioannes TSEKOS ¹⁾

Aus dem Botanischen Institut der Universität Thessaloniki, Griechenland

Mit 6 Abbildungen

Eingegangen am 19. September 1975

Zusammenfassung

Aus spektralphotometrischen und Elektrophorese-Untersuchungen geht hervor, daß bei Brillanteresyblau im physiologischen pH-Bereich vorwiegend einwertige Kationen vorliegen. Nach eigenen Messungen beträgt die Dissoziationskonstante von Brillanteresyblau zwischen einwertigem Kation und Farbbasenmolekül $K = 0,743 \cdot 10^{-11}$ (pKa = 11,13).

Die Abhängigkeit der Absorptionsmaxima wässriger Farbstoff-Lösungen konstanten pH-Wertes von der Farbstoffkonzentration deutet darauf hin, daß der angewandte Farbstoff Assoziate bildet.

Aus dem Vergleich der *in vivo* gewonnenen Ergebnisse mit denen *in vitro* erhaltenen wird geschlossen, daß sowohl die Färbung der typisch leeren Zellsäfte als auch die der Zellwand auf einer Speicherung zunächst der monomeren Brillanteresyblau-Kationen beruht. Durch eine Konzentrationserhöhung beim Zellsaft auf Grund des Ionenfallenmechanismus und bei der Zellwand infolge der Elektroadsorption (maximal $>1/1.000$) kommt es dann aber zu einer Assoziation der Farbkationen.

Die Speicherung der typisch vollen Zellsäfte beruht dagegen auf einer salzartigen Komplexbildung zwischen Farbkationen und zelleigenen Flavonolen. In den Zellsäften mit geringerem Flavonolgehalt liegen nebeneinander monomere, dimere Kationen und Moleküle des Brillanteresyblau-Flavonol-Komplexes vor.

¹⁾ Prof. Dr. I. TSEKOS, Botanisches Institut der Universität Thessaloniki, Griechenland.

Summary

Microspectrophotometric Investigations of Cells from the Living Upper Epidermis of the Bulb Scale of *Allium cepa* after Staining with Brilliant Cresyl Blue.

Spectrophotometric and electrophoretic investigations show that in a physiological range of pH brilliant cresyl blue predominantly exists as univalent cations. According to measurements performed by the present author the dissociation constant of the brilliant cresyl blue regarding the equilibrium between the univalent cation and the dye base molecule is $K = 0,743 \cdot 10^{-11}$ (pKa = 11,13).

Since maximum absorption of aqueous dye solutions with stable pH is dependent upon the concentration of the dye, it is supposed that the used dye builds associates.

A comparison of results obtained by *in vivo* investigations with those of *in vitro* experiments suggests that the staining of typically "empty" cell saps, as well as the staining of the cell wall, is initially caused by an accumulation of monomeric brilliant cresyl blue cations. Because of an ion trap mechanism, and as there is an electroadsorption in the cell wall, an increase of concentration ensues (the maximum concentration being $>1/1.000$), leading to an association of dye cations.

On the other hand, the accumulation of dye in typically "full" cell saps is caused by the formation of salt-like complexes of the dye cation of brilliant cresyl blue with flavonoles native to the cell. In cell saps of a lower flavonole concentration molecules as well as monomeric and dimeric cations of brilliant cresyl blue exist along with their flavonole complexes.

Einleitung

Der kationische Farbstoff Brillanteresylblau ist vielfach für Vitalfärbungen benutzt worden (NIRENSTEIN 1920, IRWIN 1925/28, 1925/26, 1926 a, b, 1927, DRAWERT 1940, HÖFLER & SCHINDLER 1953, 1955, DRAWERT & METZNER 1955, KIERMAYER 1961, DISKUS 1957, HÖFLER & DISKUS 1957, KINZEL 1959, TORIYAMA 1960, BURIAN 1961, 1965, LUHAN 1963, TSEKOS 1965, 1968 u. a.). IRWIN (1925/28, 1925/26, 1926 a, b, 1927) untersuchte einerseits die Aufnahme und die Speicherung des genannten Farbstoffs durch die Vakuolen von *Nitella* und andererseits die Verteilung zwischen lipophilen und hydrophilen Phasen (vgl. auch DRAWERT 1940, 1968, BYRNE 1962).

Nach KINZEL (1958) und TSEKOS (1970 a) haben konzentrierte Brillant-cresylblau-Lösungen infolge einer reversiblen Assoziation („Polymerisation“) der Kationen eine gegenüber den verdünnten Lösungen veränderte Lichtabsorption. Nach KINZEL (1958) zeigen konzentrierte Brillant-cresylblau-Lösungen eine Absorptionsbande, die sogenannte D(=Dimeren)-Bande, bei ~ 585 nm, in stark verdünnten Lösungen tritt eine Absorptionsbande der monomeren Kationen, die sogenannte M-Bande, bei ~ 625 nm auf

(RABINOWITCH & EPSTEIN 1941, KINZEL 1959, STADELMANN & KINZEL 1972). In spektroskopischen Untersuchungen von KINZEL (1959) tritt in vollen Zellsäften nach Vitalfärbung mit Brillanteresyblau eine Bande bei 640 nm auf, die der Autor als „Verbindungs-Bande“ (V-Bande) bezeichnet (vgl. auch HÄRTEL & THALER 1966). Mit Brillanteresyblau vital-gefärbte leere Zellsäfte weisen bei ~ 585 nm die Absorptionsbande der assoziierten Farbkationen auf (KINZEL 1959).

Nach HÖFLER & SCHINDLER (1955) und HÖFLER & DISKUS (1957) besitzen die leeren Zellsäfte nach Brillanteresyblau-Färbung einen violetten Farbton; die Speicherung erfolgt nach dem Ionenfallenprinzip (trap mechanism, BROOKS & BROOKS 1941, Ionenfalle, HÖFLER 1947). Die vollen Zellsäfte zeigen nach Vitalfärbung mit Brillanteresyblau einen blauen bis grünblauen Farbton.

Unter bestimmten Umständen besitzen die Schuppenblattober-epidermen der Zwiebel von *Allium cepa* alle Übergänge von leeren zu vollen Zellsäften; dann weisen die Epidermen nach Vitalfärbung mit kationischen Farbstoffen eine „Mosaikfärbung“ (DRAWERT 1937, 1938, 1968, BANCHER & HÖLZL 1960, DRAWERT & RÜFFER-BOCK 1965, TSEKOS 1970a, b, c) auf.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mikrospektralphotometrisch zu klären, in welchem Zustand und in welcher Konzentration Brillanteresyblau nach Vitalfärbung im Zellsaft und der Zellwand der *Allium*-Zelle vorliegt.

Methodik

Zur Erzielung von Oberepidermen mit Zellsäften von unterschiedlichem Flavonolgehalt wurden die Schuppenblätter der Zwiebeln einige Tage in den Luftraum eines abgeschlossenen Gefäßes gebracht, dessen Boden mit Wasser bedeckt war, um eine hohe Luftfeuchtigkeit zu erhalten (BOCK 1964). Die Zellen wurden mit Brillanteresyblau 1/10.000 in Phosphatpuffer (STRUGGER 1949) entweder bei pH $\sim 9,9$ (Zellsaftfärbung) oder bei pH $\sim 4,0$ (Zellwandfärbung) angefärbt. Die Aufnahme der Absorptionsspektren von lebenden Zellen wurde in dem entsprechenden farblosen Lösungsmittel mit dem UMSP I (C. Zeiss, Oberkochen) durchgeführt. Die Vitalität der Zellen wurde durch Beobachtung der Plasmaströmung während der Messungen kontrolliert.

Die Absorption des untersuchten Farbstoffs im Wasser und deren Beeinflussung durch die Farbstoffkonzentration, den pH-Wert und Rutinzusatz wurde mit dem Spektralphotometer PMQ II (C. Zeiss) gemessen. Näheres über die Methodik siehe TSEKOS (1969a, b, 1970a, b, c).

Ergebnisse und Diskussion

Dünnschichtchromatographisch läßt das benutzte Brillanteresyblau (Merck) neben der blauen Hauptkomponente noch sechs weitere Verunreinigungen in Spuren erkennen (Tabelle 1). Da sich die in geringerer Menge

vorhandenen Verunreinigungen nicht störend bemerkbar machten, unterblieb eine Reinigung des Farbstoffs.

Tabelle 1

hRf-Werte von Brillanteresyblau mit Chloroform-Methanol (80+20) auf Kieselgel G-Schichten

hRf	Farbton
(87) ¹	violett
(84)	blau
(80)	blauviolett
(51)	himmelblau
(44)	himmelblau
(33)	himmelblau
24	blau

¹ Die hRf-Werte der NebenkompONENTEN sind in () angegeben.

Übereinstimmend mit den Literaturangaben (DRAWERT 1940, 1968, HARMS 1965) erweist sich Brillanteresyblau als kationischer Farbstoff; aus dem Elektrophoreseversuch (Tabelle 2) und der Lichtabsorption (Abb. 2) kann geschlossen werden, daß Brillanteresyblau unterhalb von 8,5 vollständig dissoziiert ist.

Tabelle 2

Papierelektrophorese von Brillanteresyblau

pH	cm in Richtung Kathode
1,9	0,7
3,9	0,7
5,7	1,2
7,2	1,3
8,4	1,3
11,2	1,0
12,3	0,0

Mikrospektralphotometrische Messungen in lebenden Zellen setzen eine genaue Kenntnis der Absorptionseigenschaften des verwendeten Farbstoffs in Abhängigkeit von Konzentration und pH-Wert voraus.

Es wurden die Absorptionskurven für verschiedene Farbstoffkonzentrationen bei konstantem pH-Wert aufgenommen. Aus Abb. 1 geht hervor, daß die Absorptionsspektren der wässrigen Lösungen von den Konzen-

tration abhängig sind. Mit steigender Konzentration tritt das in 1/500.000 ausgeprägte Absorptionsmaximum bei 635 nm (M-Bande) immer weiter zurück, es entsteht bei kürzeren Wellenlängen ein neues Maximum, das in 1/1.000 bei 578 nm (D-Bande) liegt. Die Absorptionsverlagerung geht so weit, daß in 1/1.000 das langwellige Maximum völlig verschwunden ist. Diese Erscheinung spricht für eine Assoziation der Farbkationen (vgl. KORTÜM 1962, KINZEL 1958, DRAWERT 1968 und die dort angegebene Literatur, TSEKOS 1969b, 1970a, b, c, 1972, 1973). Das Beersche Gesetz trifft also für Brillanteresylblau bis zu einer Konzentration von 1/500.000 nicht zu.

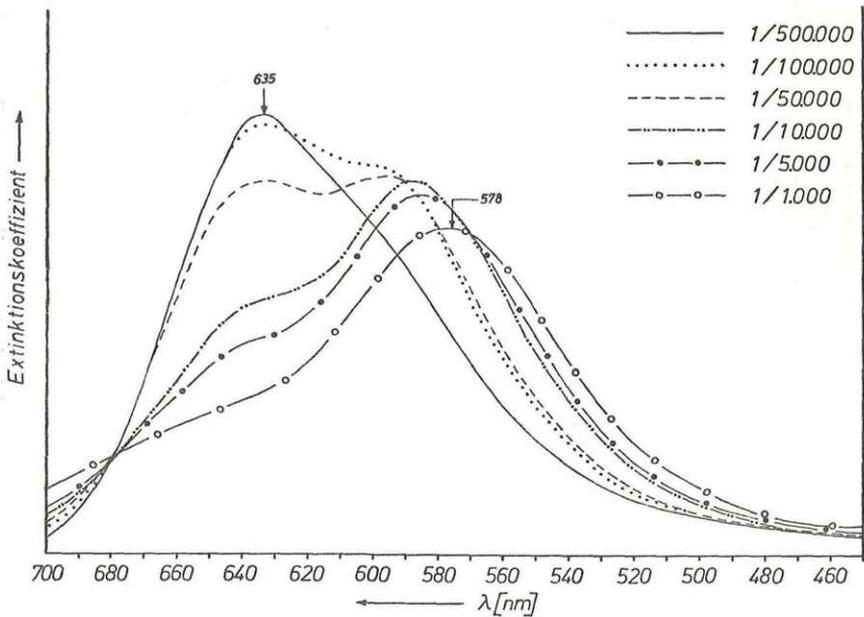


Abb. 1. Absorptionskurven von Brillanteresylblau für verschiedene Konzentrationen bei pH 6,6

Abb. 2 läßt die Abhängigkeit des spektralen Absorptionsverlaufes vom pH-Wert der Lösung bei einer Konzentration von 1/200.000 erkennen (vgl. auch LILLIE 1969). Für Brillanteresylblau treten von pH 2,0 bis 12,5 zwei Absorptionsmaxima bei 635 nm und 540 nm auf. Die Tatsache, daß alle Absorptionskurven einen gemeinsamen Schnittpunkt (isobestischer Punkt, KORTÜM 1962) bei 553 nm besitzen (Abb. 2), deutet darauf hin, daß hier ein Gleichgewicht zwischen dem einwertigen Kation und dem Farbbasenmolekül vorliegt, wie ein Vergleich der Tabelle 2 und Abb. 2 ergibt. Der Umschlagbereich von Violetrot nach Blau (Basenmolekül \rightleftharpoons Kation⁺) konnte in Anlehnung an ZANKER (1952) für Brillanteresylblau mit der Dissoziations-

konstante $K = 0,743 \cdot 10^{-11}$ ($pK_a = 11,13$) festgestellt werden (vgl. IRWIN 1926 a, COHEN & PREISLER 1930, KINZEL 1955).

Um Rückschlüsse auf die Zustandsform des Farbstoffs im Zellsaft ziehen zu können, wurde der Einfluß des Flavonols Rutin (Na-Salz des Rutin-Schwefelsäure-Esters, Merck) auf die Absorptionsspektren der Brillantcresylblau-Lösungen in Phosphatpuffer ($2/375$ Mol/l KH_2PO_4+

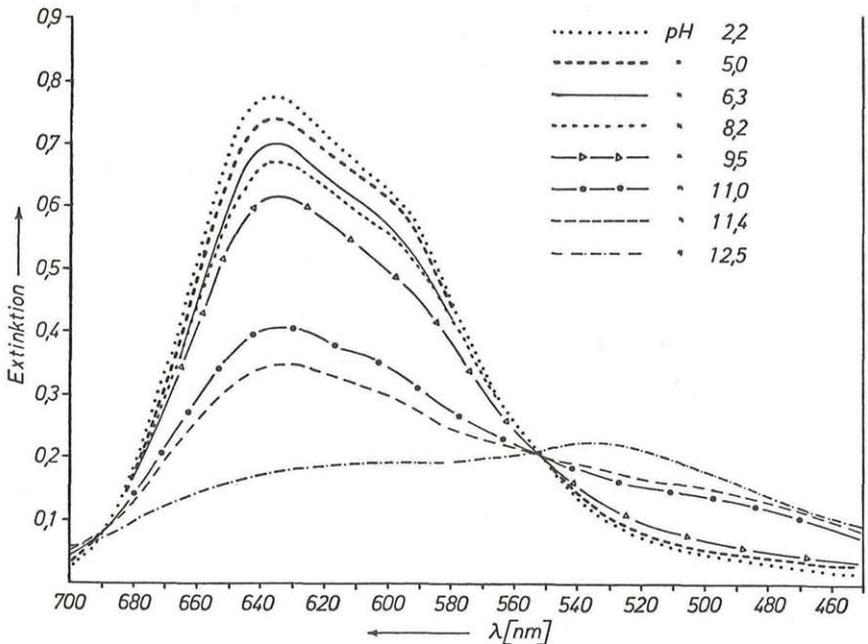


Abb. 2. Absorptionskurven von $1/200.000$ Brillantcresylblau bei verschiedenen pH-Werten.

$1/750$ Mol/l Na_2HPO_4) untersucht (Abb. 3). Zusatz kleiner Rutin-Mengen hat das Auftreten einer Schulter bei ~ 650 nm und die Verschiebung der D-Bande nach dem langwelligen Spektralbereich zur Folge. Mit zunehmender Rutinkonzentration tritt ein neues Maximum bei 655 nm (V-Bande) auf, während die D-Bande sich weiter zum langwelligen Bereich verschiebt. Bei hohen Rutinkonzentrationen ist die kurzwellige Bande nur als Schulter angedeutet. Das Maximum bei 665 nm (V-Bande) weist auf eine Brillantcresylblau-Rutin-Verbindung hin.

Nach Vitalfärbung mit Brillantcresylblau zeigten die Zellsäfte der Oberepidermiszellen von *Allium cepa*, die wie verwiesen vorbereitet worden waren, im Lichtmikroskop Mischöne zwischen violett und blaugrün (Mosaikfärbung). Absorptionskurven solcher Epidermen sind in Abb. 4 wieder-

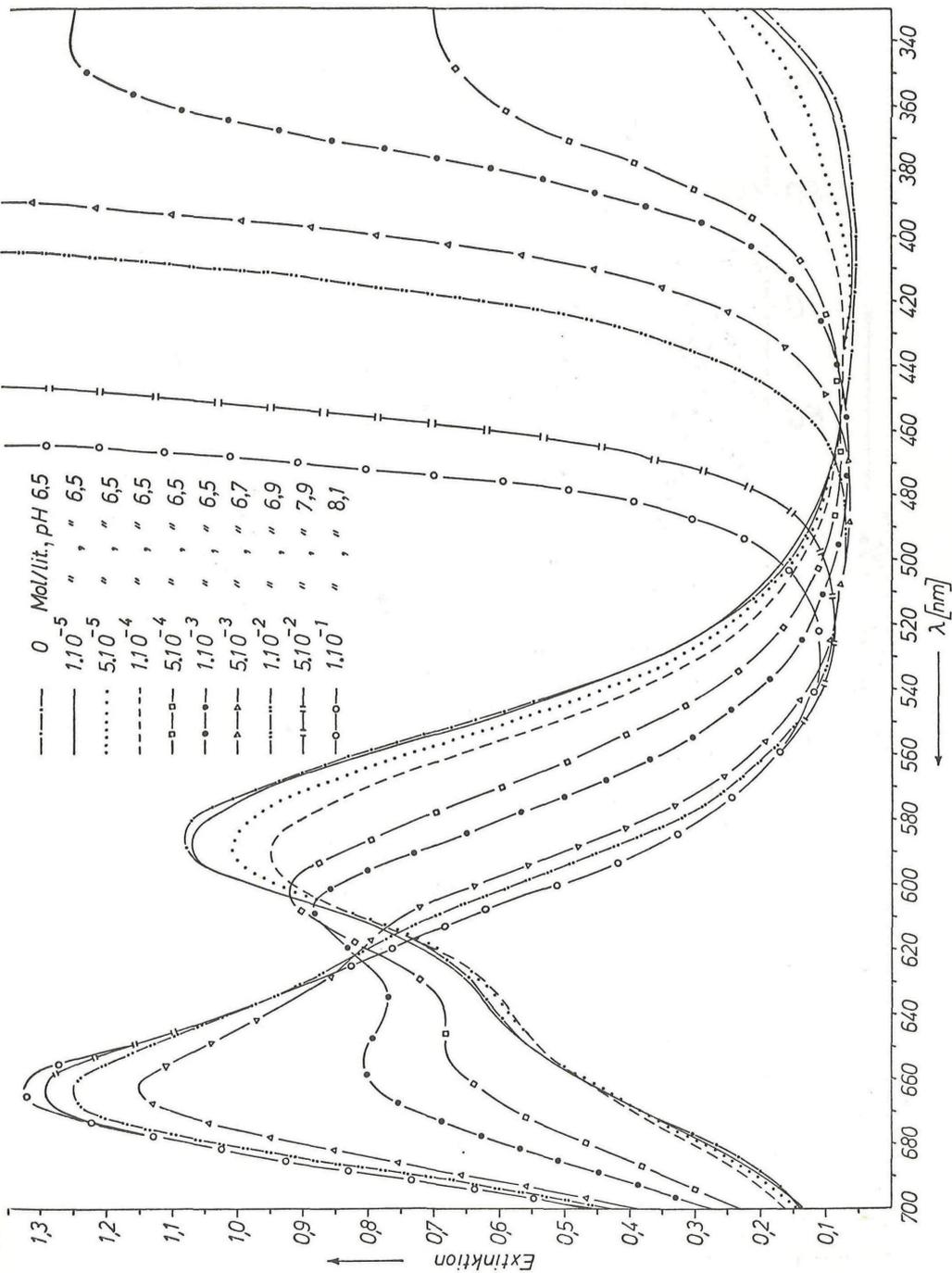


Abb. 3. Absorptionskurven von 1/5.000 Brilliantcresylblau in Rutinlösungen verschiedener Konzentration

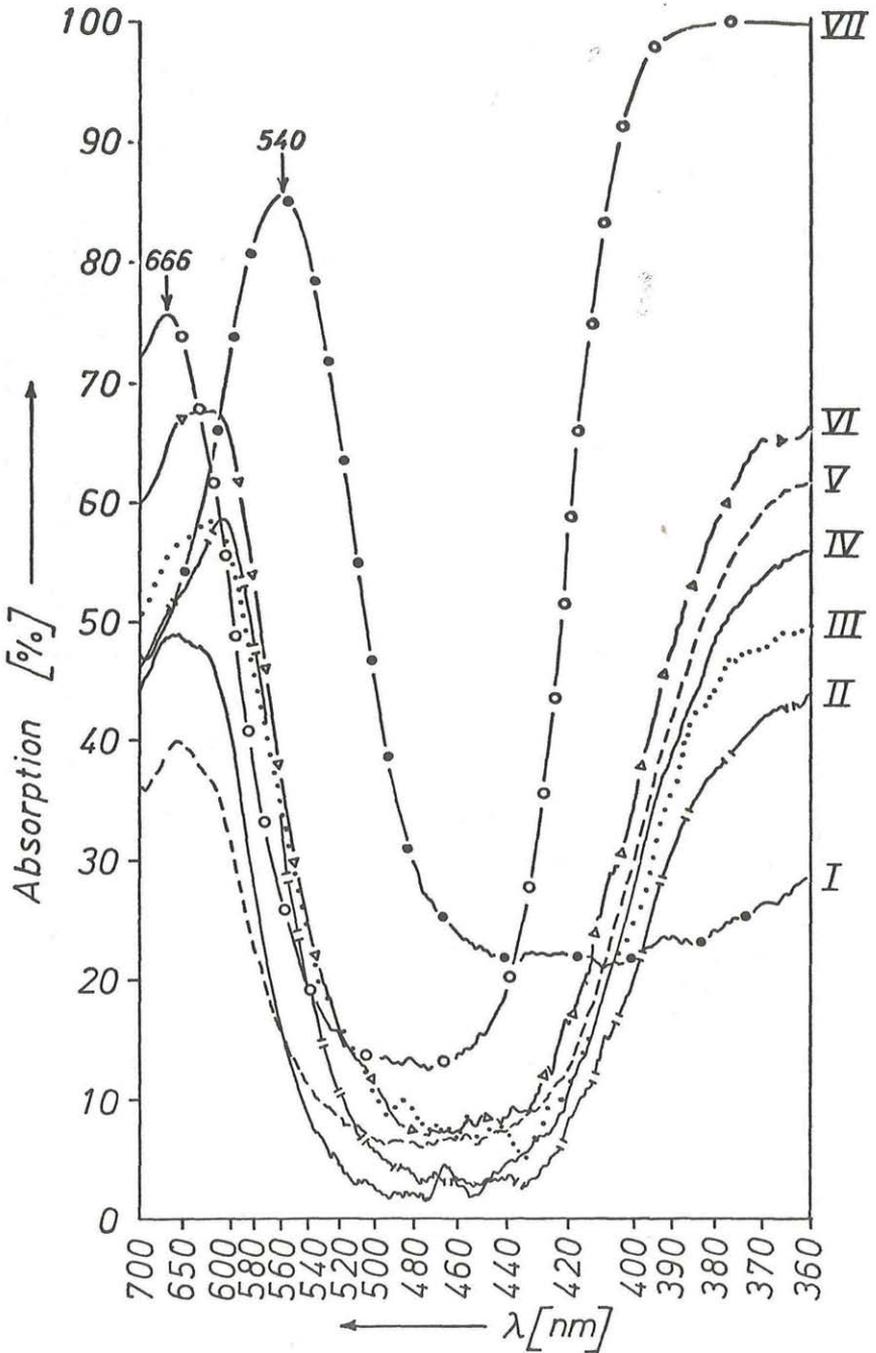


Abb. 4. Absorptionskurven verschiedener Zellsäfte aus Oberepidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa*, die nach Vitalfärbung mit Brillanteresylblau eine Mosaikfärbung aufweisen

gegeben. Kurve I mit einem Maximum bei ~ 540 nm bezieht sich auf einen leeren — also vorwiegend flavonolfreien — Zellsaft. Die starke Abweichung vom Maximum der Monomeren, das bei 635 nm (Abb. 2) liegt, nach dem kurzwelligen Spektralbereich, ist wohl dadurch zu erklären, daß auf Grund der hohen Farbstoffkonzentration im Zellsaft eine Assoziation der Monomeren zu Dimeren stattfindet (vgl. auch KINZEL 1959, TSEKOS 1969b, 1970a, b, c, 1972, 1973). Aus dem Vergleich von Abb. 4 mit Abb. 1 wird ge-

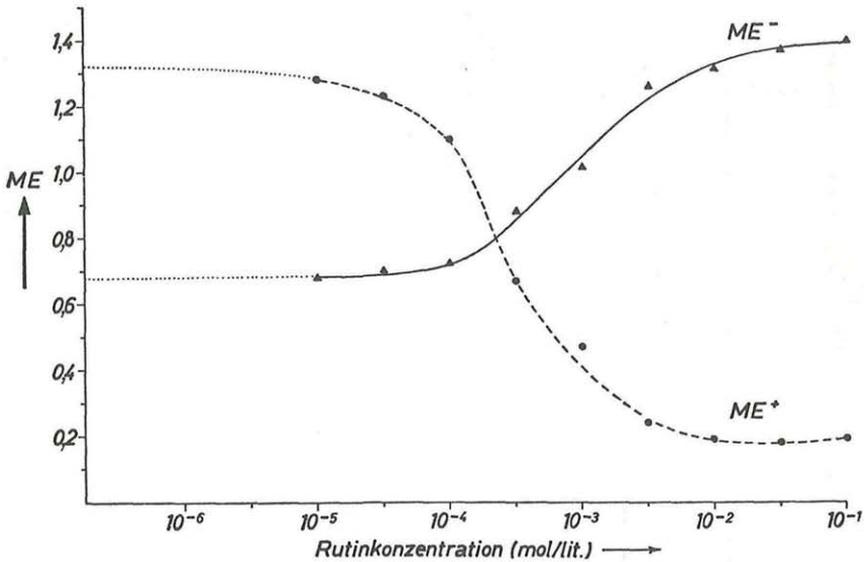


Abb. 5. Die Metachromasiegrade von 1/5.000 Brillanteresylblau in verschiedenen konzentrierten Rutinlösungen. Negative Metachromasie = $ME^- = E_{665}/E_{635}$ —▲—▲—; positive Metachromasie = $ME^+ = E_{680}/E_{635}$ —●—●—.

schlossen, daß Brillanteresylblau bis zu einer Konzentration von maximal $>1/1.000$ im Zellsaft angereichert wird. Der leere Zellsaft (Kurve I, Abb. 4) zeigt keine Absorption im Bereich unterhalb von 440 nm, was mit den Angaben von BANCHER & HÖLZL (1960), DRAWERT & RÜFFER-BOCK (1965) sowie TSEKOS (1970a, b, c) übereinstimmt. Eine schwache Erhöhung der Absorption im langwelligen UV-Bereich hat eine Verschiebung der D-Bande nach dem langwelligen Spektralbereich (Abb. 4) zur Folge. Mit steigender Absorption unterhalb von 400 nm, d. h. mit zunehmendem Flavonolgehalt des Zellsaftes, tritt eine Schulter bei ~ 655 nm auf (Abb. 4). Aus einem Vergleich der Abb. 1, 2, 3 und 4 ergibt sich, daß die Zellsäfte, von denen die Absorptionskurven II, III und IV der Abb. 4 aufgenommen worden sind, monomere und dimere Ionen und Moleküle des Brillanteresylblau-Flavonol-Komplexes nebeneinander enthalten. Beim höchsten Flavonolgehalt der

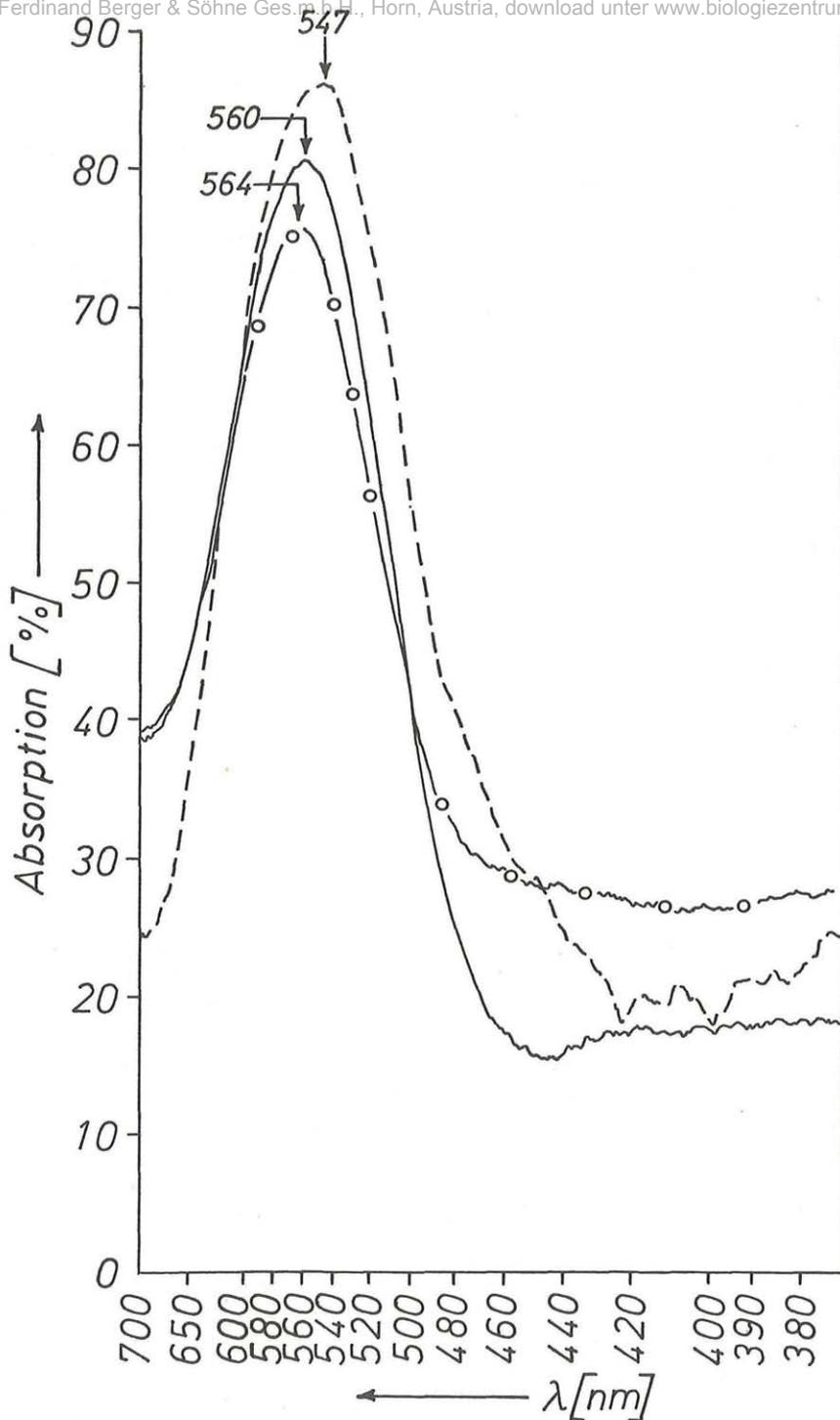


Abb. 6. Absorptionskurven der mit Brillanteresylblau gefärbten Zellwand von Oberepidermis der Schuppenblätter von *Allium cepa* nach Plasmolyse mit 0,8 Mol/l Rohrzucker

Zellsäfte ist die kurzwellige Bande nicht oder nur als Schulter angedeutet (Kurven IV und V der Abb. 4). Das Maximum bei 666 nm (Abb. 4, V-Bande) weist auf die Brillantcresylblau-Flavonol-Verbindung hin.

Daraus geht hervor, daß die *in vivo* erhaltenen Ergebnisse (Abb. 4) in bester Übereinstimmung mit den *in vitro* gewonnenen (Abb. 2 und 3) stehen.

Aus Abb. 3 und 4 ist zu entnehmen, daß die absolute Brillantcresylblau-Konzentration in flavonolhaltigen Zellsäften nicht bestimmt werden kann. Man kann aber etwas über das quantitative Verhältnis der Farbstoffe zu den Flavonolen aussagen.

In Abb. 5 sind die Grade der positiven und negativen Metachromasie (WIAME 1947) eingetragen. Die ME⁺-Kurven zeigen etwa einen umgekehrten Verlauf wie die ME⁻-Kurven.

Zur Aufnahme der Absorptionsspektren von Zellwänden werden die Oberepidermen nach einer Brillantcresylblau-Färbung 1/10.000 in Phosphatpuffer (pH ~4,0) mit 0,8 Mol/l Rohrzucker in dest. Wasser plasmolysiert. Die Absorptionsspektren der beiden periklinen Wände des Plasmolysevorraumes sind aufgenommen worden (siehe DRAWERT und RÜFFER-BOCK 1965, Abb. 3, TSEKOS 1970 a, b, c). Wie aus der Abb. 6 zu entnehmen ist, bringt eine Erhöhung der Absorption eine starke Verschiebung der D-Bande nach dem kurzwelligen Spektralbereich mit sich. Aus einem Vergleich der Abb. 1, 2 und 6 wird geschlossen, daß bei der Zellwandfärbung weder eine Anlagerung der Farbbase noch ein „alkalischer Membran- oder Poreneffekt“ im Sinne von CZAJA (1934, 1935, 1936) stattfindet, sondern eine Elektroadsorption der Farbkationen. Bei der Adsorption der Farbkationen an die negativ geladenen sauren Kohlenhydrate der Zellwände (vgl. ARNOLD 1966) tritt eine so starke lokale Konzentrationserhöhung des Farbstoffs ein, daß eine Assoziation der Kationen erfolgt (vgl. ZANKER 1952, BARTELS 1954, KINZEL 1955 b, 1959, TSEKOS 1970 a, b, c, STADELMANN & KINZEL 1972). Aus der Lage der Absorptionsmaxima ist zu schließen, daß die Konzentration von Brillantcresylblau innerhalb der Zellwand maximal >1/1.000 beträgt.

Schrifttum

- ARNOLD M. 1966. Modellversuche zur Analyse metachromotroper Substanzen. — Histochemie 6: 1—7.
- BANCHER E. & HÖLZL J. 1960. Die Umwandlung leerer in volle Zellsäfte bei *Allium cepa* in Beziehung zur Flavonolbildung. (Spektrophotometrische und mikrospektrographische Messungen.) — Flora 149: 396—425.
- BARTELS P. 1954. Quantitative mikrospektroskopische Untersuchungen der Speicherungs- und Permeabilitätsverhältnisse akridinorangegefärbter Zellen. — Planta 44: 341—369.
- BOCK U. 1964. Untersuchungen zum Mechanismus der Vakuolenfärbung pflanzlicher Zellen mit basischen Farbstoffen. — Flora 154: 99—135.

- BROOKS S. C. & BROOKS M. M. 1941. The permeability of living cells. Protoplasma-Monographien 19. Berlin: Gebr. Borntraeger.
- BURIAN K. 1961. Über Chloroplastenkontraktion bei *Closterium lunula* und deren Reversibilität. — Protoplasma 53: 19—33.
- 1965. Die Chondriosomen im Plasma von *Closterium lunula*. — Protoplasma 59: 594—596.
- BYRNE J. M. 1962. The uptake of dyes by extracted phospholipids and cerebro-sides. — Quart. J. micr. Sci. 103: 47—56.
- CZAJA A. Th. 1934. Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengeweben. II. Basische Farbstoffe. — Planta 21: 531—601.
- 1935. Der Membran- oder Poreneffekt des Absorptionsgewebes und seine physiologische Bedeutung. — Planta 24: 527—528.
- 1936. Untersuchungen über den Membraneffekt des Absorptionsgewebes und über die Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle. — Planta 26: 90—119.
- DRAWERT H. 1937. Untersuchungen über den Erregungs- und den Erholungsvorgang in pflanzlichen Geweben nach elektrischer und mechanischer Reizung. — Planta 26: 391—419.
- 1938. Beiträge zur Entstehung der Vakuolenkontraktion nach Vitalfärbung mit Neutralrot. — Ber. dtsh. bot. Ges. 56: 123—131.
- 1940. Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. — Flora 134: 159—214.
- 1968. Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen und Gewebe. — Protoplasmatologia II/D/3. Wien—New York: Springer.
- & METZNER I. 1955. Vitalfluorochromierungen mit Brillantkresylblaupräparaten verschiedener Herkunft. — Ber. dtsh. bot. Ges. 68: 385—394.
- & RÜFFER-BOCK U. 1965. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen mit dem UMSP I (C. Zeiss) an Oberepidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa* nach Neutralrotfärbung. — Protoplasma 60: 435—445.
- HÄRTEL O. & THALER I. 1966. Mikrospektralphotometrische Studien zur Metachromasie vitalgefärbter Zellen. — Protoplasma 62: 356—374.
- HARMS H. 1965. Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie. Kamp-Lintfort: Staufen-Verlag.
- HÖFLER K. 1947. Einige Nekrosen bei Färbung mit Akridinorange. S.-B. Wien Akad. Wiss., Abt. I, 156: 585—644.
- & DISKUS A. 1957. Vitalfärbungen mit Nilblau und Brillanteresylblau. — Protoplasma 48: 429—451.
- & SCHINDLER H. 1953. Vitalfärbbarkeit verschiedener Closterien. — Protoplasma 42: 296—311.
- — 1955. Volle und leere Zellsäfte bei Algen. — Protoplasma 45: 173—193.
- IRWIN M. 1925/28. On the accumulation of dye in *Nitella*. — J. gen. Physiol. 8: 147—182.
- 1925/26. Accumulation of brilliant cresyl blue in the sap of living cells of *Nitella* in the presence of NH_3 . J. gen. Physiol. 9: 235—253.
- 1926a. Mechanism of the accumulation of dye in *Nitella* on the basis of the entrance of the dye as undissociated molecules. — J. gen. Physiol. 9: 561—573.

- IRWIN M. 1926b. Certain effects of salts on the penetration of brilliant cresyl blue into *Nitella*. — J. gen. Physiol. 10: 425—436.
- 1927. Salts affecting penetration of brilliant cresyl blue into *Nitella* at different pH values. — Proc. Soc. exper. Biol., Med. 24: 382—384.
- KIERMAYER O. 1961. Elektive Vitalfärbung der Sekretidioblasten von *Helianthus annuus*. — Protoplasma 53: 113—117.
- KINZEL H. 1955a. Theoretische Betrachtungen zur Ionenspeicherung basischer Vitalfarbstoffe in leeren Zellsäften. — Protoplasma 44: 52—72.
- 1955b. Zur Kausalfrage der Zellwand-Fluorochromierung mit Akridinorange. — Protoplasma 45: 73—96.
- 1958. Beobachtungen zum Problem der Metachromasie von Nucleinsäure. — Z. Naturforsch. 13b: 271—274.
- 1959. Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe. (Eine Studie zum cytochemischen Aspekt der Vitalfärbung.) — Protoplasma 50: 1—50.
- KORTÜM G. 1962. Kolorimetrie, Photometrie und Spektrophotometrie. Berlin—Göttingen—Heidelberg.
- LILLIE R. D. 1969. H. J. Conn's biological stains. Baltimore, Maryland.
- LUHAN M. 1963. Die Epidermis von *Agropyron repens*. Beobachtungen über Bau, Entwicklung und Verhalten ihrer Zellen bei Vitalfärbung. — Protoplasma 56: 645—660.
- NIRENSTEIN E. 1920. Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. 179: 233—337.
- RABINOWITCH E. & EPSTEIN L. F. 1941. Polymerization of dyestuffs in solution. Thionine and methylene blue. — J. Amer. Chem. Soc. 63: 69—78.
- STADELMANN E. J. & KINZEL H. 1972. Vital staining of plant cells. In: D. M. PRESCOTT, Methods in cell physiology, vol. V, p. 325—372. New York—London.
- STRUGGER S. 1949. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Aufl. Berlin—Göttingen—Heidelberg.
- TORIYAMA H. 1960. Observational and experimental studies of sensitive plants. XI. On the thread-like apparatus and the chloroplasts in the parenchymatous cells of the petiole of *Mimosa pudica*. Cytologia 25: 267—279.
- TSEKOS I. 1965. Das Verhalten einiger Rhodophyceen gegen Vitalfluorochrome.— Diss. Thessaloniki (griech.).
- 1968. Vital- und Fluoreszenzfärbestudien an Rhodophyceenzellen. — Protoplasma 66: 241—253.
- 1969a. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen an den Oberepidermen der Schuppenblätter von *Allium cepa* nach Färbungen mit den Oxyfluoronen Na-Fluorescein, Eosin und Erythrosin. — Flora, Abt. A, 159: 519—535.
- 1969b. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen zum Speichermechanismus des amphoteren Oxazinfarbstoffs Prune pure durch die lebende pflanzliche Zelle. — Protoplasma 67: 249—267.
- 1970a. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen zum Speichermechanismus einiger kationischer und anionischer Farbstoffe durch die lebende pflanzliche Zelle. Habilitationsschrift, Thessaloniki (griech.).

- TSEKOS I. 1970b. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen an lebenden Zellen der Schuppenblattoberepidermen von *Allium cepa* nach Acridinorange Färbung. — Mikroskopie 26: 30—40.
- 1970c. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen an lebenden Zellen der Schuppenblattoberepidermen von *Allium cepa* nach Toluidinblau O- und Nilblauchlorid-Färbung. — Protoplasma 71: 173—190.
 - 1972. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen an lebenden Zellen der Schuppenblattepidermen von *Allium cepa* nach Färbung mit den Triphenylmethanfarbstoffen Methyl-, Gentiana- und Kristallviolett. — Biochem. Physiol Pflanzen (BPP) 163: 344—362.
 - 1973. Mikrospektralphotometrische Untersuchungen zum Speichermechanismus der kationischen Farbstoffe Viktoriablau B und 4R durch die lebende und tote Pflanzenzelle. — Histochemie 36: 201—217.
- WIAME J. M. 1947. The metachromatic reaction of hexametaphosphate. — J. Amer. Chem. Soc. 69: 3146—3147.
- ZANKER V. 1952. Über den Nachweis definierter reversibler Assoziate („reversible Polymerisate“) des Acridinorange durch Absorptions- und Fluoreszenzmessungen in wäßriger Lösung. — Z. physik. Chem. 199: 225—258.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1976

Band/Volume: [17_3_4](#)

Autor(en)/Author(s): Tsekos Ioannes

Artikel/Article: [Mikrospektrometrische Untersuchungen an lebenden Zellen der Schuppenblattepidermen von Allium cepa nach Brillantcresylblau-Färbung. 233-246](#)