

Phyton (Austria)	Vol. 17	Fasc. 3-4	255-264	18. 8. 1976
------------------	---------	-----------	---------	-------------

Nachweis der Aufnahme von Huminsäure durch die Pflanze mittels Metachromasie von Acridinorange

Von

Johann EDER und Otto HÄRTEL *)

Mit 1 Abbildung

Eingelangt am 12. Februar 1976

Zusammenfassung

In früheren Veröffentlichungen wurde gezeigt, daß die Anwesenheit von Huminsäure mittels der Metachromasie von Farbstoffen, z. B. von Acridinorange, nachgewiesen werden kann. In vorliegender Arbeit wird ein Diagramm vorgestellt, das die Stärke der positiven Metachromasie von Acridinorangeflösungen in Abhängigkeit von dem Verhältnis Huminsäure : Farbstoff erkennen läßt.

In Homogenisaten von Haferkeimlingen, denen in der Kulturlösung Huminsäure geboten wurde, ist der Metachromasiegrad von Acridinorange gegenüber den huminsäurefreien Kontrollen zugunsten der D-Bande erhöht.

Auch das Guttationswasser von Haferkeimlingen in huminsäurehaltiger Kulturlösung erweist sich nach dieser Methode huminsäurehaltig, es vermag ferner auf Filtrierpapier gebracht die Fluoreszenz von Acridinorange zu löschen.

Die Ergebnisse lassen erkennen, daß Huminsäuren durch die intakten Haferkeimlinge aufgenommen und in ihnen transportiert werden kann. Die Aufnahme sinkt aber innerhalb weniger Tage stark ab, wahrscheinlich infolge Verstopfung der Wasserleitbahnen durch die großen Huminsäuremoleküle.

Summary

Evidence was already given in papers published earlier, that the presence of humic acid can be recognized by metachromasy of certain dyes,

*) Anschriften der Verfasser: Dr. Johann EDER, A-8010 Graz, Rosenhainegasse 11; Univ.-Prof. Dr. Otto HÄRTEL, Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Universität Graz, A-8010 Graz, Schubertstraße 51.

e. g. acridin orange. A diagram is presented now showing the degrees of positive metachromasy plotted against the varying ratio of humic acid to acridin orange.

In homogenizates of seedlings of *Avena sativa* supplied with humic acid the degree of the positive metachromasy of acridin orange is remarkable higher than in controls grown without humic acid.

In the droplets exuded by guttation of seedlings grown in a humic acid containing solution, humic acid can be recognized by the same method, and also by quenching the fluorescence of acridin orange if spotted upon filter-paper.

These observations indicate an absorption and transportation of humic acid in the intact seedlings. The absorption ceases within a few days, which is probably due to blocking the water movement by the macromolecules of humic acid.

1. Einleitung

MICHEL 1962, 1963 a, b konnte den Nachweis erbringen, daß mit Huminsäure-Lösungen vorbehandelte Zwiebelepidermen und Wurzeln von Haferkeimlingen bei nachfolgender Vitalfluorochromierung mit Acridinorange eine deutliche Fluoreszenzhemmung, verbunden mit auffälliger Fluoreszenzmetachromasie, zeigten. Da Huminsäure auch *in vitro* gleichartige Änderungen der Fluoreszenz von Acridinorange hervorruft, muß geschlossen werden, daß Huminsäure in die Zellen einzudringen vermag. Die Beobachtungen MICHELs eröffneten so einen Weg, auch geringe Mengen der sonst kaum faßbaren Huminsäure nachzuweisen.

HÄRTEL & THALER 1966 sowie PROSKE 1967 (unveröff.) konnten weiters zeigen, daß die Aufnahme chromotoper Substanzen in vitalgefärbte Zellen an Hand der Veränderungen des Metachromasiegrades des in den Vakuolen gespeicherten Farbstoffes spektralphotometrisch verfolgt werden kann.

Im folgenden wird über Versuche berichtet, mittels der Metachromasie von Acridinorange Huminsäure in Haferkeimlingen und in deren Guttationswasser und damit deren Aufnahme und Transport in der Pflanze nachzuweisen.

2. Zum Nachweis von Huminsäure mittels Acridinorange

Von käuflicher Huminsäure (FLUKA, im folgenden kurz mit HS bezeichnet) wurde eine Stammlösung 1 : 500 (g : v) in 0,1 N NaOH hergestellt und diese mit Kationenaustauscher auf pH 7,2 gebracht. Die Stammlösung wurde für die Versuche mit 0,02 N Phosphatpuffer pH 7,2 (STRUGGER 1949) zur jeweils benötigten Konzentration verdünnt.

Die Farbstofflösungen wurden aus einer wäßrigen Stammlösung von Acridinorange (FLUKA, im folgenden mit AO bezeichnet) 1 : 10.000 (g · v) durch Verdünnen mit dem gleichen Puffer hergestellt. Der Farbstoff wurde

ohne vorangegangene Reinigung verwendet, die Stammlösung immer wieder erneuert.

In Gegenwart von HS verändert sich die Absorptionskurve stark verdünnter AO-Lösungen derart, daß neben dem sog. orthochromatischen Maximum bei 491 nm, das den Farbstoff-Monomeren entspricht, ein zweites Maximum bei 465–470 nm auftritt (positive Metachromasie, LISON & MUTSAARS 1950). Diese neue Absorptionsbande wird den Dimeren, also Assoziaten des AO, zugeordnet (ZANKER 1952, vgl. auch DRAWERT 1968). Die orthochromatische Bande wird mit RABINOWITCH & EPSTEIN als M-(=Monomeren-)Bande, die im kürzerwelligen Bereich als D-(=Dimeren) Bande bezeichnet. Huminsäure wirkt demnach gegenüber Acridinorange als positiv metachromatisches Chromotrop. Das Ausmaß der Metachromasie läßt sich durch den Metachromasiegrad $M_D = E_D/E_M$, also durch das Verhältnis der Extinktionen im Bereich der beiden Absorptionsbande angeben (KINZEL 1958). Dieses Verhältnis ist zunächst von der jeweiligen Konzentration des Farbstoffes und von der Menge zugesetzten Chromotrops (also von HS) abhängig. Bei einem bestimmten Mischungsverhältnis erreicht M_D ein Maximum, überschüssiges Chromotrop kann den Metachromasiegrad wieder mindern. Weiters hat auch der pH der Lösung einen Einfluß auf den Metachromasiegrad; Vorversuche haben ergeben, daß die metachromatische Wirksamkeit der HS im sauren Bereich, wohl infolge der zurückgedrängten Dissoziation der HS, geringer ist und bei pH 5, bei dem die HS bereits weitgehend dissoziiert vorliegt, maximal wird; bei weiterer Erhöhung des pH ändert sich M_D kaum mehr (untersucht wurde bis pH 9). Um einheitliche Bedingungen zu schaffen und gleichzeitig im physiologischen Bereich zu bleiben, wurden alle Messungen bei pH 7,2 durchgeführt. Auch das Alter der Lösungen spielt eine Rolle. Nach dem Mischen der HS- und AO-Lösungen verschiebt sich die D-Bande scheinbar rasch in den längerwelligen Bereich, nach 35 Min. ist sie als Schulter bei 475 nm erkennbar; Ursache ist wahrscheinlich die geringere Löslichkeit des AO-HS-Komplexes, die bei höher konzentrierten Lösungen zum Ausflocken führt (MICHEL 1963 b). Dem Rechnung tragend wurde der Metachromasiegrad aus den Extinktionen bei 490 und 470 nm berechnet.

Zu den Messungen diente ein Beckman-Spektralphotometer B, einige Meßreihen wurden mit einem Mikrospektralphotometer von Reichert durchgeführt.

Fig. 1 gibt die Metachromasiegrade für verschiedene Konzentrationsverhältnisse von HS und AO in Form eines dreidimensionalen Diagramms wieder. Trotz der relativ groben Abstufungen erkennt man daraus, daß bei steigenden HS-Konzentrationen auch höhere AO-Konzentrationen erforderlich sind, um maximale Metachromasie herbeizuführen. Grundsätzlich müßte es daher möglich sein, durch Aufsuchen der maximal metachromatisch wirkenden AO-Konzentration auf die ungefähre HS-Konzentration zu schließen. Dies läßt aber nur bei reinen Lösungen einen Erfolg erwarten,

in biologischen Flüssigkeiten muß mit zusätzlich wirkenden Chromotropen gerechnet werden, wodurch einer quantitativen Auswertung bald eine Grenze gesetzt ist. Es wurde daher im Nachstehenden von dieser Möglichkeit kein Gebrauch gemacht; das Diagramm stellt aber ausreichend unter Beweis, daß aus der Metachromasie auf die Anwesenheit von Huminsäure geschlossen werden kann.

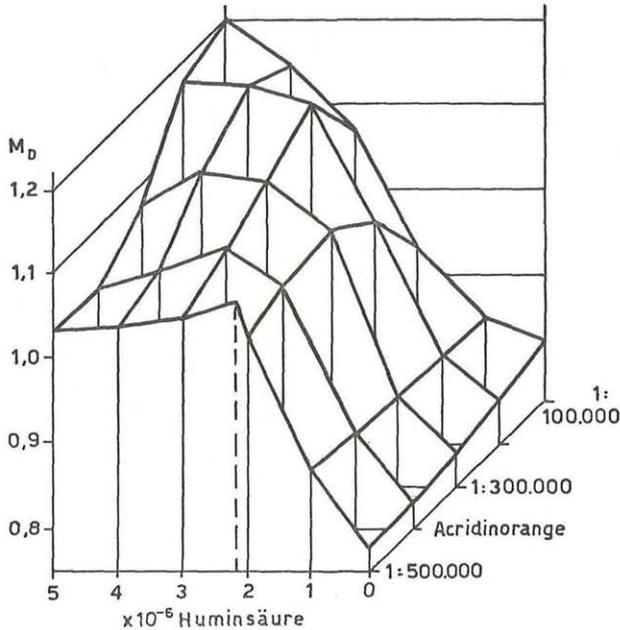


Abb. 1. Metachromasiegrade ($M_D = E_{470}/E_{490}$) bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen Huminsäure : Acridinorange. (pH = 7,2, 19° C, unmittelbar nach dem Mischen gemessen)

Außer der Absorptionsmetachromasie zeigt AO eine noch ausgeprägtere Fluoreszenzmetachromasie, indem die rote Fluoreszenz der Farbstoffdimeren durch die Bindung an die Humuskolloide gelöscht wird und die restlichen Farbstoff-Monomeren in trübgrüner Fluoreszenzfarbe erscheinen (STRUGGER 1940, MICHEL 1963 a).

3. Nachweis von Huminsäure in Pflanzenhomogenisaten

Hafer der Sorte „Flämingkrone-Saathafer“ wurde auf Filtrierpapier im Dunkeln angekeimt, bis die Würzelchen eine Länge von ca. 1,5 cm erreicht haben. Dann kamen die Keimpflanzen in Kulturgefäße von 270 ml Inhalt, wobei streng darauf geachtet werden, daß an ihnen kein Wasserfilm verblieb und der Spiegel der Kulturlösung möglichst tief lag. um kapillaren

Aufstieg der huminsäurehaltigen Lösung zu verhindern. In jedes Kulturgefäß kamen 55 Keimlinge. Als Kulturmedium diente eine Lösung von 2 T. 0,07%ige HS, 1,5 T. aqua dest. und 0,5 T. Leitungswasser. Dazu kamen noch pro Gefäß 10 ml 1/15 M Phosphatpuffer pH 7,5 (STRUGGER 1940). Das Leitungswasser wurde verdünnt geboten, um Ausflocken der HS zu vermeiden, dem gleichen Zweck diente der Pufferzusatz. Kontrollen wurden analog, jedoch unter Ersatz der HS-Lösung durch die gleiche Menge aqua dest. angesetzt. Die Kulturen kamen unter Glasglocken, das Guttationswasser wurde regelmäßig abgesaugt (zu dessen Analyse vgl. unten). Nach 4 Tagen wurden 0,5 g oberirdische Teile der Keimlinge ausschließlich der Hypocotyle geerntet, in 30 ml 1/15 M Phosphatpuffer pH 7,5 im Ultraturax homogenisiert und das Rohhomogenisat klar zentrifugiert. Die Homogenisate der HS-Pflanzen und der Kontrollen zeigten weder in Farbton noch in ihrer Fluoreszenz einen erkennbaren Unterschied, auch nicht nach Zusatz von AO zu einer Endkonzentration von 1 : 66.000 und 1 : 133.000; die Metachromasiegrade unterscheiden sich nur wenig. Nach Entfernen des störenden Chlorophylls mittels Benzin oder Petroläther, die, wie Vorversuche ergeben haben, Huminsäure nicht lösen, ergibt sich ein deutlich höherer Metachromasiegrad für die D-Bande (Tabelle 1).

Tabelle 1

Metachromasiegrade von Haferkeimlingshomogenisaten nach Zusatz von Acridinorange $M_D = E_{470}/E_{490}$

	AO allein	Kontrollpflanzen + AO	HS-Pflanzen Roh- extrakt	ausge- schüttelt
AO 1 : 66.000	0,857	0,948	0,957	0,987
AO 1 : 133.000	0,808	0,956	0,960	0,982

Um auszuschließen, daß Huminsäure trotz aller Vorsicht äußerlich an den Keimlingen hochgestiegen sein könnte, wodurch eine HS-Aufnahme vorgetäuscht werden könnte, wurde der Versuch folgendermaßen variiert. Die Keimlinge verblieben vier Tage in den Kulturgefäßen mit huminsäurefreier Lösung. Dann wurden Primärblätter etwa 15 mm hinter der Blattspitze abgetrennt und mit der Schnittfläche etwa 3 mm tief in Agar folgender Zusammensetzung eingesteckt; 70 ml aqua dest., 30 ml 1/15 M Phosphatpuffer pH 7,5 werden mit 0,8 g Agar aufgeköcht und nach Abkühlen auf ca. 75° C 100 ml 0,07%ige HS von pH 7,2 (bei den Kontrollen 100 ml aqua dest.) zugesetzt. Beide Ansätze wiesen ein pH von 7,5 auf. Nach weiteren 4 Tagen wurden die Blattproben knapp über dem Agar sorgfältig abgetrennt, 0,2 g Frischmaterial mit 10 ml Phosphatpuffer pH 7,2 homogenisiert

und mit 50 ml Petroläther ausgeschüttelt. Nach Zusatz von AO zur Endkonzentration 1 : 70.000 ergaben sich folgende Metachromasiegrade:

Acridinorange allein	$M_D = 0,815$
Kontrolle + Acridinorange	$M_D = 0,818$
HS-Pflanzen, ausgeschüttelt	$M_D = 0,913$

Der Anstieg des Metachromasiegrades ist bei dieser Versuchsanstellung deutlich stärker als beim Versuch mit intakten Pflanzen.

4. Versuche mit Guttationswasser

In weiteren Ansätzen wurde das durch Guttation ausgeschiedene Wasser mit AO auf den Gehalt an Huminsäure untersucht. Hierzu wurden Haferkeimlinge wie oben beschrieben in HS-hältigen und HS-freien Lösungen angesetzt und unter einen feucht ausgeschlagenen Glassturz (feuchte Kammer) verbracht. Im Laufe von etwa 40 Stunden wurden mit einer Pipette mehreremal die Guttationstropfen gesammelt, abgesaugt und vereinigt; zwischendurch wurde das gesammelte Guttationswasser im Kühlschrank aufbewahrt. Beim Einsammeln fiel bereits auf, daß die in HS-haltiger Lösung wachsenden Keimlinge um etwa ein Drittel mehr guttierten als die Kontrollen.

Mit AO 1 : 120.000 (Endkonzentration) ergaben sich folgende M_D -Werte:

AO 1 : 120.000	0,819
AO + Exsudat der Kontrolle	0,847
AO + Exsudat der HS-Pflanzen	0,961

Wieder erschien bei den HS-Pflanzen die D-Bande stärker betont (positive Metachromasie). Ausdehnung des Versuches auf 4 Tage erbrachte im wesentlichen das gleiche Resultat, nur war nunmehr der Unterschied der M_D -Werte zwischen HS- und Kontrollpflanzen wesentlich geringer.

Weiters wurde versucht, die Anwesenheit von Huminsäure im Guttationswasser mittels Tüpfelanalyse durch Fluoreszenzhemmung nachzuweisen. Dazu wurde Filtrierpapier (Schleicher-Schüll Selecta Nr. 589²) mit 1/15 M Phosphatpuffer pH 7,5 getränkt und trocken gelassen. Auf das so vorbereitete Papier wurden die Exsudate mit einer Mikropipette im Warmluftstrom mehreremal auf die gleiche Stelle aufgetropft und so konzentriert. Unter der UV-Analysenlampe zeigten die Flecken einen blaugrün bis gelbgrün fluoreszierenden Rand um ein dunkles Mittelfeld. Ein Unterschied in der Fluoreszenzfarbe war zwischen den beiden Ansätzen nicht zu erkennen, die Randzonen der HS-Exsudate fluoreszierten im allgemeinen etwas kräftiger. Nun wurde das Filterpapier beiderseits mit 2 ml Acridinorange 1 : 100.000 pH 7,5 besprüht und noch feucht unter der Analysenlampe beobachtet. Die vorher fast völlig dunkle Zentralpartie der Tüpfel

der Kontrollpflanzen fluoreszierte jetzt kräftig gelbgrün, die Tüpfel der HS-Pflanzen erschienen nur schwach graugrün, sie löschten die Fluoreszenz des AO weitgehend, wie dies auch mit reinen HS-Lösungen demonstriert werden kann. Der Unterschied ist jedoch bereits am 2. Tag geringer, ab dem 3. Tag ist eine eindeutige Unterscheidung der HS- und Kontrolltüpfel kaum mehr möglich; noch später fluoreszieren die Exsudate der HS-Pflanzen bisweilen sogar etwas kräftiger als die der Kontrollen.

Eine photographische Dokumentation der Tüpfelfluoreszenz findet sich bei EDER 1970.

Zu beachten ist, daß die Tropfen zuerst aufgetragen und dann erst besprüht werden. Werden die Tropfen auf das mit AO getränkte Papier aufgetragen, ergeben sich keine Unterschiede, wahrscheinlich wegen der bei dieser Pufferkonzentration geringen Löslichkeit des AO. Versuche mit Blattspitzen, die wie oben beschrieben in Agar eingesteckt waren, ergaben das gleiche Resultat; die Fluoreszenzhemmung der HS-Proben verschwand etwa ab dem 3. Tag. Eine weitere Bestätigung lieferte ein „Kreuzversuch“. Keimlinge verblieben zunächst 6 Tage in HS-hältiger sowie HS-freier Kulturlösung. Nach 6 Tagen wurden von den Keimlingen jedes Ansatzes etwa 2 cm lange Blattspitzen abgeschnitten und in der beschriebenen Weise in HS-hältigen Agar (HS-Agar) bzw. in HS-freien (K-Agar) eingesteckt. Die Menge des nunmehr ausgeschiedenen Guttationswassers war nur mehr recht gering. Die Tropfen fluoreszierten, auf Papier gebracht und mit AO 1 : 100.000 besprüht wie folgt:

Tabelle 2

Tüpfelfluoreszenz des Guttationswassers nach Vorbehandlung in huminsäure-hältigen Substraten

Pflanzen aus	Blattstücke übertragen in		Fluoreszenz
HS-Lösung, 2. Tag	—	(+)	matt gelbgrün
HS-Lösung, 6. Tag	—	++	gelbgrün
HS-Lösung, 6. Tag	HS-Agar	(+)	graugrün
HS-Lösung, 6. Tag	K-Agar	+-(+)	grüngelb
Kontrolle 2. Tag	—	++++	leuchtend gelbgrün
Kontrolle 6. Tag	—	++	gelbgrün
Kontrolle 6. Tag	HS-Agar	(+)	grün
Kontrolle 6. Tag	K-Agar	+++	gelbgrün

Proben, die einmal mit Huminsäure in Berührung gekommen sind, sei es während der liquiden Vorkultur, sei es erst nachher auf HS-hältigem Agar, hemmen auf Filtrierpapier die Fluoreszenz von Acridinorange in mehr oder minder deutlichem Maße. Nur diejenigen Guttationstropfen der Pflanzen, die aus HS-freier Kulturlösung und ebensolchem Agar kommen,

zeigen keinerlei Löschung. Interessant ist die Beobachtung, daß die Fluoreszenzlösung bei Pflanzen in HS-Lösung am 6. Tag nur mehr minimal ist, nach dem Abschneiden aber nicht nur, wie zu erwarten, auf dem HS-Agar, sondern auch auf dem HS-freien Agar wiederkehrt, wenn auch nicht mehr in dem gleichen Ausmaße.

Besprechung

Aus den beschriebenen Versuchen ergibt sich, daß Homogenisate von Haferkeimlingen, denen mit der Kulturlösung Huminsäure dargeboten wurde, an Acridinorange einen deutlich höheren Grad positiver Metachromasie ergeben als die Kontrollen. Das gleiche gilt auch für das Guttations- und, wie orientierende Versuche gezeigt haben, für das Blutungswasser. In den mit HS kultivierten Pflanzen muß demnach ein zusätzliches, positiv metachromatisches Chromotrop vorhanden sein. Dieses kann wohl nur die aus dem Substrat aufgenommene Huminsäure sein. Gegenüber den Versuchen, den Blättern Huminsäure aus Agargel anzubieten, könnte zwar eingewendet werden, daß Agar selbst in gleichem Sinne stark metachromatisch wirkt (KINZEL 1959, EDER 1970). Der niedrig bleibende Metachromasiegrad bei den Agar-Kontrollen schließt wohl eine Verfälschung der Metachromasie durch Agar aus; der starke Anstieg der Metachromasie von Blattstücken auf Huminsäure-Agar geht wohl auf die leichtere Aufnahme der Huminsäure durch die Schnittfläche zurück.

Auch die Homogenisate der Kontrollpflanzen rufen an AO eine positive Metachromasie hervor, sie erreicht aber nie das Ausmaß wie bei den HS-Pflanzen. Sie ist zweifellos durch die darin enthaltenen kolloidalen Substanzen (Proteine usw.) verursacht. Es muß somit mit einer Aufnahme von Huminsäure durch die intakte Pflanze gerechnet werden. Für die Möglichkeit einer Aufnahme großmolekularer Stoffe durch Pflanzen liegen zahlreiche Befunde vor (z. B. ULRICH & McLAREN 1965, BRACHET 1957, BHIDE & BRACHET 1960); die Aufnahme von Ferritin (MG 750.000) wurde durch BARTON 1964 und BAUMANN 1965 elektronenmikroskopisch nachgewiesen, die Aufnahme von Heparin (MG 17.000—20.000) mittels der Metachromasie durch THALER 1964. Die Aufnahme radioaktiver Huminsäure hat PRÁT 1960, 1963 autoradiographisch nachgewiesen. Auch physiologische Effekte wie Beeinflussung der Atmung, der Regeneration (z. B. GAILHOFER 1969) sprechen für eine Aufnahme von Huminsäure. MICHEL (1963 a, b) konnte sie mit zellphysiologischer Methodik für die einzelne Zelle nachweisen. Mit Vorliegendem erscheint es möglich, die Aufnahme an ganzen Pflanzen und an deren Exudaten auf einfache Weise zu demonstrieren.

Besonders wäre noch auf die Tatsache hinzuweisen, daß die Exsudation von Huminsäure mit der Guttation allmählich nachläßt, durch Zugabe von neuem Puffer jedoch einmal regeneriert werden kann; eine zweite Pufferzugabe bleibt aber wirkungslos und nach etwa 7 Tagen Aufenthalt in HS-

hältigen Lösungen ist die HS-Ausscheidung und überhaupt die Guttation endgültig erloschen. Die Ursache hierfür kann einmal in einer Dispersitätsänderung der Huminsäure im Laufe des Versuches sein; der pH der Kulturlösung nimmt innerhalb 3 Tagen von 7,5 auf 6,2 ab. Der dadurch verringerte Dispersitätsgrad der Huminsäure könnte die Aufnahme hemmen. Hierfür spricht die Möglichkeit der Regeneration durch erneuten Pufferzusatz. Diese ist aber nur einmal möglich, was dafür spricht, daß die Huminsäure die Wasserleitbahnen verstopfen könnte, wodurch eine Aufnahme von Huminsäure und auch des Wassers sistiert wird. Die Intensität der Guttation liegt bei den HS-Pflanzen anfänglich etwas über der der Kontrollen, nimmt aber bald rasch ab und beträgt etwa ab dem dritten Tag nur mehr ein Drittel von diesen. Verstopfen der Gefäße durch Huminsäure haben PRÁT 1963 und GAILHOFER 1969 beschrieben. GÄUMANN 1958 gibt an, daß Partikel über MG 10.000 die Zellwände verstopfen und die Wasseraufnahme hemmen, aber auch Stoffe mit kleineren Molekülen wie Inulin (MG 5000) vermögen die Protoplasten allmählich von Transpirationsstrom abzuriegeln (vgl. jedoch STRUGGER & PEVELING 1961). Da die Huminsäure ein polydisperses System mit Teilchengrößen bis MG ~100.000 darstellt (VAN DIJK 1971), ist eine derartige Verstopfung der Wasserwege zu erwarten. Das Nachlassen der Guttationsintensität sowie der abnehmende Huminsäuregehalt der Guttationsflüssigkeit kann damit ausreichend erklärt werden.

Diese Arbeit stellt einen Teil eines Forschungsprogramms dar, das vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt wurde. Für diese Förderung wird dem Fonds auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen.

Schrifttum

- BARTON R. 1964. Electron microscope studies on the uptake of Ferritin by plant roots. — *Exp. Cell Res.* 36: 432—434.
- BAUMANN E. 1965. Ferritinaufnahme in Zellen der Maiswurzel. — *Z. Pflanzenphysiol.* 53: 90—93.
- BHIDE S. V. & BRACHET J. 1960. Study of the uptake of ribonuclease by onion root-tip cells. — *Exp. Cell Res.* 21: 303—315.
- BRACHET J. *Biochemical cytology.* — New York.
- DIJK van H. 1971. Colloid chemical properties of humic matter. — In: McLAREN A. D. & ŠKIJINS J.: *Soil Biochemistry* 2: 16—35. New York.
- DRAWERT H. 1968. Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen und Gewebe. — *Protoplasmatologia* II D 3.
- EDER J. 1970. Zur Frage der Aufnahme von Huminsäuren durch Pflanzen. — *Diss. Graz.*
- GAILHOFER M. 1969. Wirkungen von Huminsäure auf *Solanum lycopersicum*. — *Diss. Graz.*
- GÄUMANN E. 1958. Über die Wirkungsmechanismen der Fusarinsäure. — *Phytopath. Z.* 32: 359—398.

- HÄRTEL O. & THALER I. 1966. Mikrospektralphotometrische Studien zur Metachromasie vitalgefärbter Zellen. — *Protoplasma* 62: 356—374.
- KINZEL H. 1959. Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe. — *Protoplasma* 50: 1—50.
- LISON L. & MUTSAARS W. 1950. Metachromasy of nucleic acids. — *Quart. J. microsc. Sci.* 91: 309—313.
- MICHEL E. 1962. Fluorochromierung pflanzlicher Zellen in Gegenwart von Huminsäure. — *Diss. Univ. Graz.*
- 1963 a. Zur Analyse der Vitalfärbung in Gegenwart von Huminsäure I. Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen. — *Protoplasma* 56: 466—490.
 - 1963 b. Zur Analyse der Vitalfärbung in Gegenwart von Huminsäure II. Wechselwirkung zwischen Farbstoffen und Huminsäuren. — *Protoplasma* 56: 583—604.
- PRÁT S. 1960. Distribution of the humus substance fractions in plants. — *Biol. plant. (Praha)* 2: 308—312.
- PROSKE E. 1967. Mikrospektralphotometrische Messungen der Metachromasie vitalgefärbter Zellen. — *Diplomarbeit Graz.*
- STRUGGER S. 1940. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung des Akridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. — *Jenaische Z. Med. Naturwiss.* 73: 97—134.
- THALER I. 1964. Wirkung des Heparins auf die Pflanze. — *Phyton* 11: 108—120.
- ULRICH J. M. & McLAREN A. D. 1965. The absorption and translocation of C^{14} -labeled proteins in young tomato plants. — *Amer. J. Bot.* 52: 120—126.
- ZANKER V. 1952. Über den Nachweis definierter reversibler Assoziate („reversible Polymerisate“) des Acridinorange durch Asorptions- und Fluoreszenzmessungen in wäßriger Lösung. — *Z. phys. Chemie* 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): Eder Johann, Härtel Otto

Artikel/Article: [Nachweis der Aufnahme von Huminsäure durch die Pflanze mittels Metachromasie von Acridinorange. 255-264](#)