

Kurze Mitteilungen

Speicherkonkurrenz im Protoplasten einiger Meeresalgen bei Rhodamin-B-Färbung

Von

Karl Höfler, Walter Url und Alfred Diskus

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

(Eingelangt am 24. Juli 1955)

Von einer Exkursion des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Wien in die Lagune von Venedig (27. März bis 6. April 1955) wurde reiches Algenmaterial in gutem Zustand nach Wien gebracht. Von verschiedenen orientierenden Versuchen, die wir in den folgenden Wochen vornahmen (vgl. Höfler, Url u. Diskus 1956) sei im folgenden eine Versuchsreihe mit Rhodamin B mitgeteilt.

Strugger (1936) hat dieses vorzügliche Fluorochrom in die botanische Mikrotechnik eingeführt und dargetan, daß es der unschädlichste von den üblichen basischen Vitalfarbstoffen ist. Wie Drawert (1939) zeigt, ist es so schwach dissoziiert, daß es im ganzen physiologischen Bereich von pH 2,0 bis pH 11 als elektroneutral gelten kann. Es wird vor allem von lipoiden Zellkomponenten gespeichert (Strugger 1938), doch geben u. a. auch Gerbstoffe lebhafte Speicherung. Volle Zellsäfte lassen in der Regel Diffusfärbung und nachher oft Fällung von Entmischungskugeln eintreten, leere Zellsäfte, die sich mit anderen Farbstoffen nach dem „Ionenfallenmechanismus“ anfärben, bleiben in Rhodamin B naturgemäß ungefärbt (Höfler 1949, 1953, Höfler und Schindler 1955); nur in solchen Zellen erfolgt Rhodamin-Speicherung im Cytoplasma.

Es kommt nun ganz auf das Objekt und das relative Speichervermögen der Zellenbestandteile an, ob man nach Rhodaminbehandlung vitale Plasma- oder Plastiden- oder Zellsaftfärbung erhält.

Wir behandelten drei von unseren Meeresalgen, nämlich *Polysiphonia* sp. aus der Lagune von Chioggia, *Cladophora* sp. und *Bryopsis plumosa* (vom Molo des Porto di Lido) in gleicher Weise durch 10 bis 15 Minuten mit Rhodamin B 1 : 5000, das in Seewasser vom Standort der Algen gelöst war.

Polysiphonia ergab in den stärkeren Ästen violette, diffuse Zellsaftfärbung. Diese erschien im Fluoreszenzmikroskop lebhaft goldbraun. Konnten bei Beobachtung im UV-Licht über die Lokalisation der Färbung noch Zweifel bestehen, so wurden diese durch Plasmolyseversuche behoben. Die Behandlung mit 2fach konzentriertem Seewasser ergab eine gute, großbuchtig-konkave Plasmolyse, und nun bestand kein Zweifel, daß die Zell-

wand farblos und der Zellsaft im UV-Licht diffus braungelb, im Hellfeld lila gefärbt war. Die Plasmaablösung erfolgte in den Rindenzellen von der Innenseite her. Allerdings wurden die Zellen durch die kräftige Plasmolyse binnen etwa 10 Minuten getötet: Rotalgenzellen sind ja am wenigsten plasmolyseresistent (Höfler 1930). Aber die Bilder eintretender Plasmolyse genügen, die Lokalisation der Färbung eindeutig festzulegen. Unsere *Polysiphonia* hat also „volle“ Zellsäfte. Das wurde durch grüne Fluoreszenzfärbung mit Acridinorange und gleichfalls grüne mit Coriphosphin, ferner durch blaue (nicht violette) Hellfeldfärbung mit Brillantcresylblau bestätigt.

Die Zellsäfte von *Polysiphonia* speichern den Rhodamin-B-Farbstoff so lebhaft, daß, wie es scheint, für Plastiden und Plasma kein Farbstoff übrigbleibt. Beide Zellbestandteile bleiben ungefärbt.

Cladophora sp.¹ vom nördlichen Molo des Porto di Lido verhielt sich ganz anders. Zellsaftfärbung tritt nach Rhodamin-B-Behandlung nicht auf. Dafür zeigen die Plastiden ein geradezu rapides Speichervermögen. Der zarte, netzig unterteilte Chromatophor zeigt sich braungrün im Hellfeld und so grell goldbraun im UV-Licht, daß die rote Eigenfluoreszenz des Chlorophylls völlig überdeckt erscheint.

Der Zellsaft bleibt ungefärbt, er ist wahrscheinlich „leer“ und nicht speicherfähig. Das Plasma bleibt farblos, die Plastiden lassen ihm keine Farbe übrig. Bei mehrfacher Wiederholung mit der gleichen *Cladophora* von anderen Lagunenstandorten um Venedig und um Chioggia bestätigte sich das maximale Speichervermögen der Plastiden, die im UV-Licht nach Rhodaminfärbung ein prächtiges Bild darbieten.

Ungleiches Speichervermögen der Plastiden verschiedener Algen ist von Höfler und Schindler seit mehreren Jahren an Süßwasseralgen beobachtet, aber bisher nur ganz kurz (z. B. 1951, 1151) beschrieben worden. Bei unserer marinen *Cladophora* erscheint die Speicherung maximal.

Wieder anders reagierte *Bryopsis*. Die Plastiden, die im natürlichen Zustand rote Eigenfluoreszenz zeigten, ließen nach Rhodamin-B-Behandlung kaum irgendwelche Umfärbung erkennen. Auch der Zellsaft speichert nicht im mindesten: violette Vitalfärbung mit Brillantcresylblau und Gelb- bzw. Rotfärbung mit Acridinorange im Hellfeld und UV-Licht bewiesen, daß die Zellsäfte „leer“ sind. Im Übersichtsbild beurteilt, speichern die *Bryopsis*-Zellen das Rhodamin B also nur schwach. Bei näherer Beobachtung und Anwendung stärkerer Vergrößerungen zeigte sich aber aufs deutlichste, daß überall im Plasma eine recht lebhafteste Speicherung erfolgt war. Die Endfieder plasmolysierten besonders leicht mit glatten Plasmakonturen und ließen dann gelb fluoreszierende Plasmakappen erkennen. Auch die lebenden Plasmassäume an den Zellwänden leuchteten gelb. Die Frage, ob schon normales oder erst pathologisch verändertes Plasma infolge Rhodaminspeicherung im UV-Licht leuchtet, ließ sich dahin entscheiden, daß das geschädigte Plasma zwar verstärkt, daß aber auch gesundes Plasma schon deutlich speichert. Bei *Bryopsis* ist also das Plasma in der Speicher Konkurrenz nicht nur dem (leeren!) Zellsaft, sondern auch den Plastiden überlegen. An einigen Spitzen der Ästchen war Entmischung im Plasma eingetreten. Die Lipoidkügelchen waren deutlich verstärkt gelb gefärbt. Ähnliche Bilder

¹ Aus der Gruppe der *Cladophora nitida*, vielleicht *Cl. Ruchingeri* (die Kützing aus der Lagune von Venedig beschrieben hat, von der Mehrzahl der Autoren zu *Cl. nitida* gezogen). Die Zuweisung zu einer der bei Schiffner und Vátova (1938, S. 180) unterschiedenen Kleinarten bleibt nachzutragen.

hat Hofmeister (1948) an mit Chrysoidin gefärbtem Plasma der Innenepidermis von *Narcissus*-Zwiebeln beschrieben. Läßt man Pyronin (Strugger 1941), gelöst in alkalisch gemachtem Seewasser, auf *Bryopsis* einwirken, so speichert das Plasma die Pyroninbase zu zartblauer Fluoreszenz.

Bryopsis erscheint als eines der vorzüglichsten Objekte für vitale Plasmafärbung, es ist selbst dem klassischen Objekt, der Innenepidermis der Schuppen ruhender Zwiebeln, überlegen.

Literatur

- Drawert, H., 1959: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen. *Planta* 29, 376.
- Höfler, K., 1950: Das Plasmolyseverhalten der Rotalgen. *Z. Bot.* 23, 570.
- 1949: Fluorochromierungsstudien an Pflanzenzellen. Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie. Mikroskopie, Wien. 1. Sonderband, S. 46.
- 1951: Fluorochromfärbung am lebenden Protoplasten. *Mikrochemie*, Bd. XXXVI und XXXVII (Bericht über den 1. Internat. Mikrochem. Kongreß, Graz 1950), S. 1146.
- 1953: Zur Vital- und Fluoreszenzfärbung. Vortrag, gehalten auf der Botanikertagung in Hamburg am 25. August 1953. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 66, 453.
- und Schindler, H., 1955: Volle und leere Zellsäfte bei Algen. *Protoplasma* 45.
- W. Url und A. Diskus, 1956: Zellphysiologische Versuche und Beobachtungen an Algen der Lagune von Venedig. *Boll. Soc. Veneziana e di Museo Civico di Storia Nat.* (im Druck).
- Hofmeister, L., 1948: Vitalfärbungsstudien mit Chrysoidin. *Sber. Öst. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. 1*, 157, 55.
- Schiffner, V., und A. Vatoa, 1938: Le alghe della Laguna di Venezia. Estratto dalla Monografia „La Laguna di Venezia“, Vol. III, Parte V, Tomo IX.
- Strugger, S., 1936: Die Vitalfärbung der Chloroplasten von *Helodea* mit Rhodaminen. *Flora* 131, 113.
- 1938: Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6 G. *Protoplasma* 30, 85.
- 1941: Zellphysiologische Studien mit Fluoreszenzindikatoren. I. Basische, zweifarbige Indikatoren. *Flora* 35, 101.