

Fluoreszenzmessungen an strahlengeschädigten Tradescantia-Pollen

Fluorescence Measurement of Tradescantia pollen after u.v. radiation damage

H. W. TIFFE und L. ZELLES

Gesellschaft für Strahlenforschung, Institut für Strahlenbotanik, Hannover

(Z. Naturforsch. 26 b, 274—275 [1971]; eingeg. am 17. Dezember 1970)

Ziel der Untersuchung war es, mit Hilfe der Feulgen-Färbung die Reaktion der DNS in Kern und Plasma bei UV-Bestrahlung zu beobachten. Es wurden verschiedene Tradescantia-Arten verwendet.

Von im Gewächshaus gezüchteten Tradescantien wurden nach Öffnung der Knospen jeweils von ca. 10 Blüten die Staubbeutel abgepflückt und in ein mit 1 ml Keimlösung¹ gefülltes Uhrschildchen gegeben. Diese Lösung bewirkt, daß die Pollen freigesetzt werden und augenblicklich zu keimen beginnen.

Ein Teil dieser Pollensuspension wurde zur Kontrolle zurückbehalten, der andere für den Bestrahlungsvorversuch verwendet. Zu diesem Zweck wurde die Suspension mit UV-Licht (256 nm; 0,0004 Watt/cm²) verschieden lange bestrahlt. Zur Auswertung wurde jeweils ein Teil der Proben tiefgefrierfixiert², um später für Fluoreszenzmessungen zur Verfügung zu stehen, den anderen Teil ließen wir 18 Stdn. lang im Dunkeln auskeimen, um damit Keimungsrate und Schlauchlänge zu bestimmen. Die DNS wurde durch eine Feulgen-Reaktion gefärbt, wobei als Fluorochrom 2.5- bis 4'-Aminophenyl-(1)-1.3.5-oxdiazol³ benutzt wurde.

Die Fluoreszenzintensität wird durch die Hydrolysendauer stark beeinflußt, wie Abb. 1 zeigt. Für die Fluoreszenzmessungen wurde ein abgewandeltes Zeiss MP benutzt⁴.

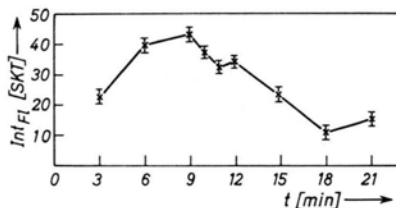


Abb. 1. Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Hydrolysendauer der Feulgen-Reaktion bei Tradescantia crassula (Hydrolysentemperatur 60 °C).

Mißt man nun bei verschiedenen Tradescantia-Arten mit guter Keimfähigkeit die Intensität der Kernfluoreszenz, so erhält man folgende Ergebnisse:

Sonderdruckanforderungen an Dipl.-Phys. H. W. TIFFE, Gesellschaft für Strahlenforschung mbH., München, D-3000 Hannover, Herrenhäuser Str. 2.

¹ I. P. MASCARENHAS, Amer. J. Bot. 53 (6), 563 [1966].

² H. W. TIFFE, L. ZELLES, D. PAUKSCH u. D. ERNST, Exp. Cell Res. 63, 207 [1970].

	[SKT]
blossfeldiana	53,1 ± 9,5
crassula	54,1 ± 10,5
fluminensis	46,3 ± 6
unbekannt *	81,7 ± 11,9

Tab. 1. Fluoreszenzintensität des Kerns in willkürlichen Einheiten.

Das Verhältnis der Intensität des generativen zum vegetativen Kern ist bei crassula $1,5 \pm 0,5$ bei unbekannt $1,6 \pm 0,2$, was in etwa den Größenverhältnissen der beiden Kerne entspricht. Mißt man nun Pollenkerne, die ihre Keimfähigkeit durch lange Lagerung verloren haben, so zeigt sich, daß die Fluoreszenzstärke herabgesetzt ist. Bei crassula $36,7 \pm 6,4$, bei unbekannt $40,2 \pm 11,7$, das entspricht 32 bzw. 50 Prozent. Das Kernverhältnis ändert sich innerhalb der Fehlergrenzen nicht: crassula $1,6 \pm 0,5$. Bestrahlt man nun Pollen mit einer letalen Röntgendosis, um keimungsunfähige Pollen zu erhalten, so zeigt sich ein völlig anderes Bild: die Kerne sind nicht mehr erkennbar, weil die Färbung nun über den gesamten Pollen verteilt ist. Die Gesamtintensität der Fluoreszenz liegt jedoch in

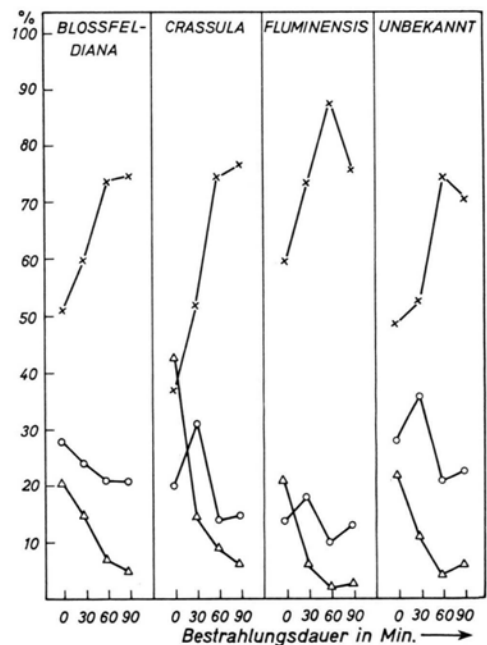


Abb. 2. Prozentuale Verteilung in Abhängigkeit von der UV-Bestrahlungsdauer. a) Langgekeimte (Schlauchlänge $\geq 250 \mu\text{m}$) \triangle — \triangle ; b) Kurzgekeimte (Schlauchlänge $< 250 \mu\text{m}$) \circ — \circ ; c) Nichtgekeimte \times — \times .

³ F. RUCH, in: Introduction to quantitative Cytochemistry 281, Academic Press, New York 1966.

⁴ H. W. TIFFE, Nato Summerschool for advanced studies in Microbeam and UV irradiation, Stresa 1970, im Druck.

* gehört zum Tradescantia-albiflora-fluminensis-Formenkreis. Eine nähere Bestimmung war nicht möglich.

der Größenordnung der Kernintensität von unbestrahlten Pollen.

Bestrahlt man die Pollen mit einer subletalen UV-Dosis, so ist mit der Zunahme der Bestrahlungsdauer eine Abnahme der Keimfähigkeit und der Keimlänge zu beobachten (Abb. 2).

Bestimmt man nun die Fluoreszenzintensität der Kerne von bestrahlten und unbestrahlten Pollen, so erhält man die folgenden Ergebnisse:

	unbestrahlt [SKT]	bestrahlt [SKT]
<i>blossfeldiana</i>	53,9 ± 10,0	54,4 ± 9
<i>crassula</i>	50,4 ± 9,5	51,5 ± 9
<i>fluminensis</i>	45,1 ± 15,5	50,8 ± 6,5
unbekannt	82,5 ± 10,4	84 ± 10

Tab. 2. Fluoreszenzintensität des Kerns in willkürlichen Einheiten.

Die bestrahlten Zellen haben jedoch im Plasma eine erhöhte Fluoreszenz.

Bestrahlungsdauer [min]	[SKT]
0	0,23 ± 0,05
60	0,32 ± 0,18
90	0,39 ± 0,19
120	0,48 ± 0,31
240	1,17 ± 0,56

Tab. 3. Fluoreszenzintensität des Plasmas in willkürlichen Einheiten.

Bei den bestrahlten Pollen ist die Streuung der Fluoreszenzwerte sehr hoch, da sich verschiedene Intensitätsgruppen herausbilden, was aus den Histogrammen (Abb. 3) ersichtlich ist.

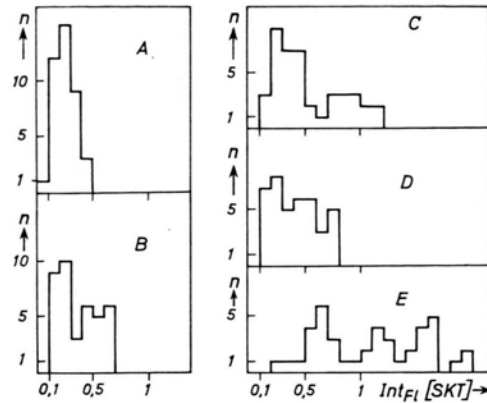


Abb. 3. Histogramme der Fluoreszenzintensität im Plasma nach verschiedenen langer UV-Bestrahlungsdauer bei *Tradescantia crassula*. A) 0 h, B) 1 h, D) 1,5 h, C) 2 h, E) 4 h.

MASCARENHAS¹ hat 1966 experimentell bewiesen, daß die Keimung der *Tradescantia*-Pollen durch zwei Vorgänge gesteuert wird. Die Ankeimung und anfängliche Schlauchbildung wird durch die „long life“ Messenger RNS gesteuert, die schon bei der Pollenreifung gebildet worden ist. Die weitere Entwicklung des Schlauches übernehmen die Kerne. Dieses Verhalten kann man auch aus Abb. 2 ablesen.

Die Strahlenschädigung, die durch die Zunahme der Fluoreszenzintensität im Plasma angedeutet wird (Abb. 3) läßt sich durch die Arbeit von CLEAVER und TROSKO⁵ erklären, die 1968 mit biochemischen Methoden nachgewiesen haben, daß bei UV-Bestrahlung die DNS von tierischen Zellen zerbricht und die Bruchstücke durch das Plasma in das Medium diffundieren.

⁵ I. E. CLEAVER and I. E. TROSKO, *Int. J. Radiat. Biol.* 15, No. 5, 411 [1969].