

## Untersuchungen der Pollenkörner von *Alnus rugosa* (Du Roi) Spreng. im Interferenzmikroskop nach NOMARSKI

Interferenzmikroskopische Untersuchungen an Pollenkörnern scheinen nur selten vorgenommen worden zu sein. DAVIES et al.<sup>1</sup> haben auf diese Art die Trockensubstanz in Pflanzenzellen, und darunter auch in Pollen, bestimmt. Mit Hilfe des Interferenzmikroskops nach FRANÇON-JOHANSSOHN wurden von GULLVÄG<sup>2</sup> an Pollen verschiedener Pflanzen die Brechzahlen ermittelt.

Es war zu überlegen, ob nicht das Interferenzmikroskop nach NOMARSKI<sup>3</sup> mit differentieller Bildaufspaltung gewisse bedeutsame Einblicke in die Struktur eines ganzen Pollenkorns geben könnte. Bei entsprechender Einstellung des dazugehörigen Interferenz-Kontrastschiebers resultiert eine besondere Verteilung von Helligkeit und Dunkelheit. Das gibt einen auffallend plastischen Eindruck, einen «Relief»-Effekt, durch den man sich aber über die räumlichen Verhältnisse nicht täuschen lassen darf und bei dessen Interpretation man deshalb vorsichtig sein muss<sup>4</sup>. Das «Relief» ist auf optische Weglängendifferenzen durch verschiedene Brechzahlen, bzw. durch verschiedene Schichtdicken im Objekt zurückzuführen. Einzelheiten hierzu können an dieser Stelle nicht erörtert werden. Indessen sind die Vorteile der NOMARSKISCHEN Konstruktion erheblich. Helle «Höfe» um kleine dunkle Partikel, wie sie oft im üblichen Phasenkontrastmikroskop recht störend sein können, treten in dieser Weise nicht auf. Bei einem Gebilde grösserer Ausdehnung wie bei einem Pollenkorn mit einer Höhe von 12–50 µm - oder mehr - kann man durch Heben und Senken des Präparats, nicht sehr durch die dazwischenliegenden Teile gestört, Schicht für Schicht auch bei starker Vergrösserung gewissermassen «abtasten».

Wir haben azetolierte Pollenkörner von *Alnus rugosa* (Du Roi) Spreng. in Glyzerolgelatine nach Kissler mit

der Einrichtung nach NOMARSKI (am Stativ Standard Universal von Zeiss/Oberkochen mit eingebautem Photogerät und Belichtungsautomatik) untersucht. Für jede Aufnahme (mit Planachromat 100/n.A. 1,25/Öl, Interferenz-Grünfilter 548 nm und Panatomic-Film Kodak) wurde der Objekttisch um 1 µm gesenkt. Das Pollenkorn wurde also damit von unten nach oben optisch «abgetastet». Von den erhaltenen Bildern seien hier einige beschrieben: Auf der Unterseite des Pollenkorns zeigen sich die gelegentlich umstrittenen «Arci»<sup>6</sup> mit einer Oberflächengestaltung, die als «verruco-rugulat» (BURRICHTER, AMELUNXEN, VAHL und GIELE<sup>7</sup>) bzw. als mit «spinules» versehen, bezeichnet werden kann (TAKEOKA und STIX<sup>8</sup>). Diese Oberflächenstruktur, die sich beim Heben und Senken des Präparats als real erweist, ist durch den «Relief»-Effekt besonders deutlich zu sehen. Die kräftigen, unschar-

<sup>1</sup> H. G. DAVIES, M. H. F. WILKINS, J. CHAYEN und L. F. LA COUR, Q. Jl. microsc. Sci. 95, 271 (1954).

<sup>2</sup> B. M. GULLVÄG, Grana palynol. 5, 3 (1964).

<sup>3</sup> M. FRANÇON, *Einführung in die neueren Methoden der Lichtmikroskopie* (G. Braun, Karlsruhe 1967), p. 102 und 107.

<sup>4</sup> J. RIENITZ, Mikroskopie 22, 178 und 186 (1967).

<sup>5</sup> A. WUNDERER und S. WITTE, Zeiss Informationen, 16. Jahrg. H. 70, 121 (1968). – W. URL und F. GABEL, Mikroskopie 22, 121 (1967). – A. BAJER und R. D. ALLEN, Science 151, 572 (1966).

<sup>6</sup> G. ERDTMANN, *An Introduction to Pollen Analysis*. Chronica botanica (Ronald Press Co., New York 1943), vol. 12, p. 69. – G. EISENHUT, Forstwiss. ZentBl. Beiheft 15, 14 (1961).

<sup>7</sup> E. BURRICHTER, F. AMELUNXEN, J. VAHL und T. GIELE, Z. Pfl. Physiol. 59, 226 (1968). (Oberflächen-Rasterelektronenmikroskop).

<sup>8</sup> M. TAKEOKA und E. STIX, Grana palynol. 4, 161 (1963). (Elektronenmikroskopisches Abdruckverfahren).

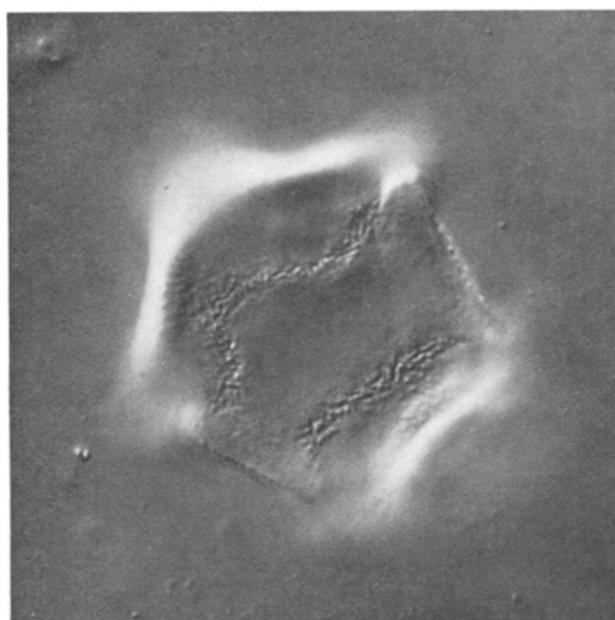


Fig. 1. Unterseite eines acetolysierten, flachliegenden Pollenkorns von *Alnus rugosa* im NOMARSKI-Interferenzmikroskop. Es sind Teile der «Arci» mit der typischen Oberflächenstruktur zu sehen. Die unscharfen Aufhellungen geben ungefähr die Konturen des Pollenkorns wieder. Vergrösserung im Original:  $\times 400$ ; photographisch und durch die Reproduktion: Gesamtvergrösserung ca.  $\times 2000$ .

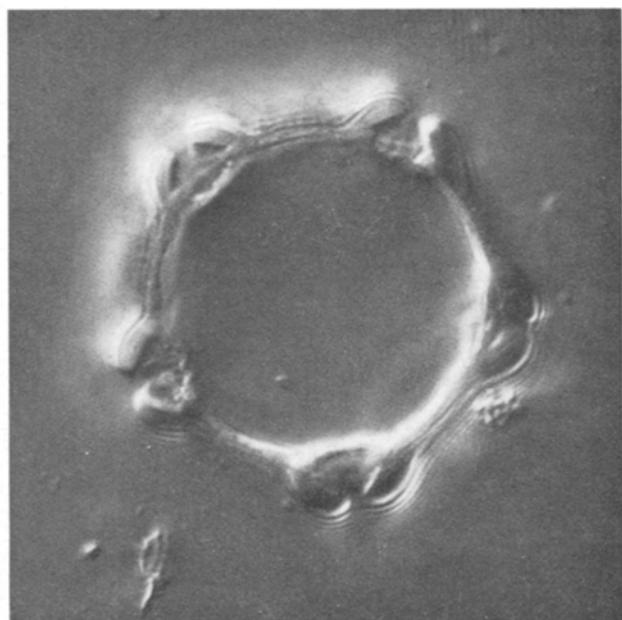


Fig. 2. Optischer Schnitt etwa durch die Mitte des gleichen, flachliegenden Pollenkorns von *Alnus rugosa* im NOMARSKI-Interferenzmikroskop. In den Porenwänden und -kammern sind verschiedene feine Strukturelemente zu sehen. (Genaueres hierzu und auch zu den optischen Artefakten – feine helle und dunkle Linien vor allem neben den Poren – siehe im Text.) Vergrösserung wie in Figur 1.

fen Aufhellungen geben ungefähr die Umrisse des Pollenkornes wieder (Figur 1). In einem mittleren Bereich des Pollenkorns sind gewisse feinere Strukturen, vor allem in den Porenkammern, sehr leicht wahrzunehmen. Einzelheiten können in dieser kurzen Mitteilung nicht interpretiert werden. Der «Relief»-Effekt ist hier zu einem erheblichen Teil durch die differenten Brechzahlen bedingt, und nicht etwa durch eine ausgeprägte räumliche Aus-

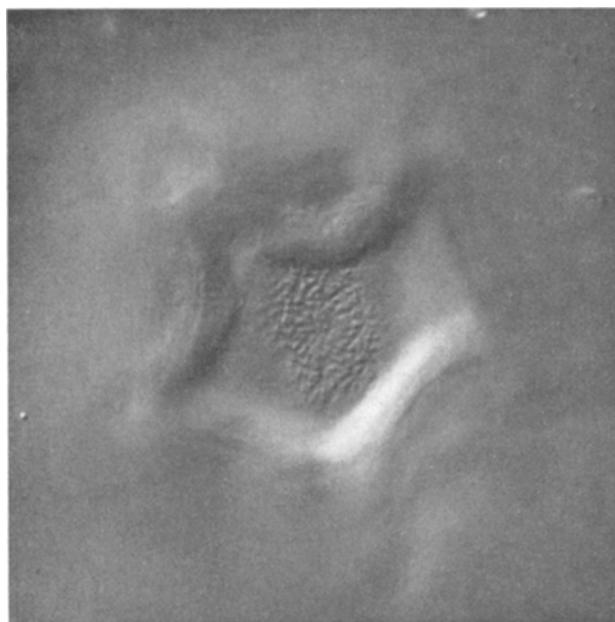


Fig. 3. Oberseite des gleichen, flachliegenden Pollenkorns von *Alnus rugosa* im NOMARSKI-Interferenzmikroskop. Mikroskopisch scharf eingestellt ist die Oberflächenstruktur der etwas eingedellten Wand des Pollenkorns, dessen Konturen in einem Grauton eben noch wahrzunehmen sind. Die «Arci» – vor allem im Bild links oben – sind mikroskopisch unscharf eingestellt und sind aus optischen Gründen (fast ohne Oberflächenstruktur) «reliefartig» zu sehen. Vergrößerung wie in den Figuren 1 und 2.

dehnung von Partikeln in der Mikroskopachse. Das zeigt sich bei verschiedenen Einstellungen mit der Mikrometer-schraube. Die im Bild neben der Wand des Pollenkorns an einigen Stellen sichtbaren, nebeneinanderliegenden hellen und dunklen Linien, die wie Beugungslinien ausschien, sind optische Artefakte, die noch zu deuten wären (Figur 2). Bei Scharfeinstellung auf die etwas eingedellte Oberseite des Pollenkorns sieht man die schon oben erwähnte Strukturiierung der Oberfläche. Die im Mikroskop unscharf eingestellten «Arci» geben im Bild – vor allem links oben – durch ihre grösitere Schichtdicke den auffallenden «Relief»-Effekt. Bei den «Arci» handelt es sich im vorliegenden Fall offensichtlich um Verdickungen der Wand des Pollenkorns (Figur 3).

Mit dieser apparativ nicht sehr aufwendigen Methode sind also in einem ganzen Pollenkorn lichtmikroskopisch feine Strukturen sehr deutlich zu sehen. Es wird jetzt von uns geprüft, inwieweit sich dieses Verfahren zur Differenzierung frischer, sehr ähnlicher Pollenkörner, wie zum Beispiel *Juniperus* und *Taxus*, sowie zur Ergänzung der LO-Analyse<sup>9</sup> eignet<sup>10</sup>.

*Summary.* With the aid of the differential interference contrast microscope (system NOMARSKI), the pollen grains of *Alnus rugosa* were examined. The characteristic surface structure, the 'arci' and certain structures in the vestibules of the pores are thus very clearly visible. A further use of this microscopic method may be possible for the investigation of pollen grains.

G. BOEHM und RUTH LEUSCHNER<sup>11</sup>

Schützenmattstrasse 46, 4051 Basel (Schweiz),  
8. April 1969.

<sup>9</sup> G. ERDTMAN, Svensk bot. Tidskr. 50, 135 (1956).

<sup>10</sup> Wir danken Herrn Prof. H. HASELMANN, Institut für wissenschaftliche Mikroskopie der Universität Tübingen für die Bereitstellung der Apparatur und Herrn dipl. Phys. J. RIENITZ für seine Hilfe bei den Aufnahmen.

<sup>11</sup> Adresse R. L.: Realpstrasse 24, 4054 Basel (Schweiz).

## International Cell Research Organization (ICRO)

1. *Training Courses.* One of the main activities of ICRO is the organization of training courses on topics of high novelty and on modern techniques in cellular and molecular biology: Principles and techniques of tissue and organ culture; Genetics and Physiology of Bacterial viruses; Energy transducing systems on the sub-cellular level; Methods in mammalian cytogenetics; Membrane Biophysics; DNA-RNA Hybridization; Biogenesis of Mitochondria; Embryology and Epigenetics; Interaction between Animal Viruses and host cells, application of computers to experimental work in biology and chemistry; Methods in molecular biology, etc. The courses generally last 3–5 weeks, and include 16–20 young participants (sometimes more). The ICRO courses are fully inter-

national, both the teaching staff and the participants coming from the largest possible number of countries.

2. *The Problem of Developing Countries.* Most of the past ICRO courses have been organizing in European countries – east and west – but the demand from developing countries is increasing steadily. ICRO activities in developing countries may tend to give preference to topics of potential economic usefulness, such as applied microbiology, microbial protein production, fermentation industries, soil microbiology, plant genetics, etc.

Inquiries for more information should be addressed to: Dr. Adam Kepes, International Cell Research Organization, c/o Unesco – AVS, Place de Fontenoy, 75 Paris 7e, France.