

Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen.

Von
Ernst Küster.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Seitdem Pfeffer in seiner grundlegenden Arbeit über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen¹⁾ gezeigt hat, wie viele Fragen der Zellenphysiologie durch das Studium des Verhaltens pflanzlicher Zellen gegenüber den Lösungen von Anilinfarben gefördert werden können, haben eine stattliche Reihe von Autoren die Durchlässigkeit des pflanzlichen Protoplasmas für die genannten Farbstoffe eingehend untersucht. Die Methodik scheint dabei im wesentlichen immer die gleiche gewesen zu sein: die Zellen, deren Plasma auf seine Durchlässigkeit geprüft werden sollte, wurden in mehr oder minder verdünnte Lösungen der Farbstoffe eingelegt und nach kürzerer oder längerer Zeit wieder aus ihnen herausgefischt. Pfeffer hat „der leichten permeablen Zellwandungen halber“ Algen bevorzugt, sowie die submersen Wurzeln verschiedener auf Wasser schwimmender Pflanzen, „die auch den Vorteil bieten, an das Wasserleben akkommodiert zu sein“. Ferner untersuchte Pfeffer aber auch unter- und oberirdische Teile vieler Landpflanzen, indem er Stücke von Wurzeln, Stengeln, Blattstielen usw. in die Lösungen eintrug. Die späteren Autoren haben sich derselben Methode bedient wie Pfeffer und haben sich dabei oft auf die Prüfung einiger Algen und Wasserpflanzen beschränkt.

Pfeffer weist darauf hin, daß die mit Hilfe aufnehmbarer Anilinfarben gewonnenen Resultate ein Mittel an die Hand geben,

1) Pfeffer, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Ein Beitrag zur Mechanik des Stoffaustausches. Unters. bot. Inst. Tübingen, Bd. II, Heft 2, 1886, S. 179 ff.

manche Vorgänge der Stoffwanderung aufzuklären. Ob freilich die Permeabilitätsverhältnisse des pflanzlichen Protoplasmas in den Zellen intakter Organe dieselben sind wie in den durch Rasiermesserschnitte aus ihrem natürlichen Zusammenhang herausgerissenen Zellen, ob sie ferner in Zellen, welche von der natürlichen Oberfläche weit entfernt liegen, sich ebenso gestalten wie in den oberflächlichen Elementen einer Wurzelepidermis oder in den Zellen einer Fadenalge, kann fraglich erscheinen. Der Nachweis solcher Unterschiede würde unzweifelhaft für die Lösung mancher Stoffwanderungsfragen nicht unwichtig sein. — Erwägungen dieser Art veranlaßten mich, mit Hilfe der von Pfeffer inaugurierten Anilinfarben-Methode die Permeabilität des Pflanzenzelleibes einer erneuten Prüfung zu unterziehen.

Um zu ermitteln, wie sich die Zellen intakter Pflanzenorgane verschiedenen wasserlöslichen Anilinfarben gegenüber verhalten, habe ich es vermieden, Stücke von Organen in die Lösungen einzutauchen; vielmehr bestand meine Methode darin, daß ich stets Sproßstücke von ansehnlicher Größe oder zum mindesten gestielte Blätter in die Farblösungen tauchen und von ihren Schnittflächen her die Farbstoffsolution in ihnen aufsteigen ließ. Versuche dieser Art sind bei Untersuchungen über die Bewegung des Wassers im Pflanzenkörper schon außerordentlich oft angestellt worden; welche Aufschlüsse sich mit eben derselben Methode für die Permeabilitätsfrage gewinnen ließen, soll auf den nachfolgenden Seiten mitgeteilt werden.

Es wird dabei genügen, das Verhalten derjenigen Farbstoffe zu schildern, welche von anderen Autoren¹⁾ als nicht aufnehmbar oder doch als schwer aufnehmbar bezeichnet worden sind.

Ich will zunächst einen Auszug aus meinem Versuchsprotokoll geben und dann die Ergebnisse meiner eigenen Experimente mit den an Algenzellen, Wurzelhaaren oder Gewebeschnitten gewonnenen Ergebnissen anderer Autoren vergleichen. Schon jetzt darf die Mitteilung vorweg genommen werden, daß ich bei der Prüfung der pflanzlichen Zellen auf Permeabilität bzw. Impermeabilität bestimmten Farbstoffen gegenüber keineswegs immer zu denselben Ergebnissen

1) Vgl. namentlich E. Overton, Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIV, S. 669); W. Ruhland, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, S. 1); R. Höber u. S. Chassin, Die Farbstoffe als Kolloide und ihr Verhalten in den Nieren vom Frosch (Zeitschr. f. Chemie und Industrie der Kolloide, 1908, Bd. III, H. 2); R. Höber, Die Durchlässigkeit der Zellen für Farbstoffe (Biochem. Zeitschr., 1909, Bd. XX, S. 56).

gekommen bin wie die früheren Untersucher, auf deren Arbeiten nachher näher einzugehen sein wird. —

Lebende Pflanzen, welche in geeigneten Anilinfarblösungen stehen, zeigen auch dem unbewaffneten Auge schon nach kurzer Zeit den Erfolg der Farbenbehandlung. Blätter und Blüten beginnen sich mit dem aufgenommenen Farbstoff mehr oder minder kräftig zu färben. Verwendet man Pflanzen mit rein weißen Blüten, so ist der Erfolg selbstverständlich am leichtesten wahrzunehmen.

Untersucht man künstlich gefärbte Blätter oder Blüten mit dem Mikroskop, so stellt sich heraus, daß die Färbung entweder auf einer Tinktion der Membranen beruht oder auf vitaler Farbstoffaufnahme im Zellinnern. Uns interessiert hier nur der zweite Fall. Um bei der Untersuchung dünner Schnitte sicher ermitteln zu können, ob vitale Färbung im Zellinnern vorliegt oder nicht, bedarf es oft des Zusatzes einer plasmolysierenden Elektrolytlösung. Das Plasma der lebendigen Zellen kontrahiert sich nach einem solchen und läßt dann keinen Zweifel mehr, ob die Färbung in dem Zellenleib selber saß oder nicht; auch wird durch die Behandlung mit Elektrolyten ein großer Teil der Farbe, welche etwa die Membranen der Zellen aufgenommen haben, von diesen wieder abgegeben.

Sämtliche Versuche, über die im folgenden berichtet werden soll, wurden in der Weise angestellt, daß mikroskopische Schnitte angefertigt und die Zellen, welche gefärbt erschienen oder auf ihren Farbgehalt geprüft werden sollten, mit einem Plasmolytikum behandelt wurden (0,5—0,8 n KNO_3 oder n $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Von dem Verhalten der Membranen gegenüber den Farbstofflösungen wird nur gelegentlich berichtet werden.

Wenn in den nachfolgenden Protokollauszügen davon die Rede sein wird, daß z. B. nach 24 Stunden die eine oder die andere Färbungserscheinung beobachtet wurde, so soll damit nicht gesagt sein, daß jene Färbungserscheinung erst nach Ablauf von 24 Stunden auftrat. —

Den Farbenfabriken vorm. Bayer & Co. in Elberfeld, der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin und der Badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen sage ich für die Bereitwilligkeit, mit welcher sie mir Proben zahlreicher Farbstoffe überlassen haben, besten Dank. Eine Reihe von Farbstoffen, die ich verwendet habe, stammen aus der Sammlung des Herrn Prof. Höber, dem ich nicht nur für die Überlassung von Farbstoffproben, sondern auch für manchen guten Rat zu danken habe.

Verzeichnis der untersuchten Farbstoffe und der Bezugsquellen.

Aurautia (Grübler).	Indigearmin (Grübler).
Azoblau (Bayer).	Indulin, wasserlösl. (Grübler).
Bayrisch Blan (Kahlbaum).	Kongobraun (Bezugsquelle?).
Benzoreinblau (Bayer).	Kongorot (Grübler).
Biebricher Scharlach (Grübler).	Lichtgrün F S (Grübler).
Bordeaux R (Grübler).	Methylorange (Grübler).
Chromgrün (Bayer).	Nachtblau (Bad. Anilinf.).
Coccinin (Grübler).	Naphthalingrün V (Höchst).
Diamingrün B (Cassella).	Nigrosin, wasserlösl. (Grübler).
Diaminreinblau (Cassella).	Orange G (Grübler).
Echtrot A (Bayer).	Oxaminmarron (Bad. Anilinf.).
Echtrot B (Bad. Anilinf.).	Patentblau A (Höchst).
Echtsäurephloxin (Höchst).	Patentblau V (Höchst).
Eosin bläulich (Grübler).	Ponceau 2 R (Höchst).
Erythrosin (Grübler).	Ponceau P R (Grübler).
Fuchsin S, Säurefuchsin (Grübler, Kahlbaum).	Setopalin (Geigy).
Gallein (Bayer).	Trypanrot (Grübler).
Guineagrün B (Kahlbaum).	Tuchrot 3 G A (Akt.ges. f. A.).
	Wollviolett S (Bad. Anilinf.).

Fuchsin S (Säurefuchsin).

Iris pseud-acorus. Junge Blätter: nach 24 Std. starke Rötung zumal im oberen Teil der Blätter. Die den Nerven anliegenden Mesophyllzellen haben reichliche Farbstoffmengen in sich aufgenommen.

I. sibirica. Unreife Früchte: die Parenchymzellen des Perikarps nehmen nach 24 Std. vital außerordentlich kräftige Rotfärbung an.

Tulipa Gesneriana. Unreife Früchte: nach 24 Std. sind die Grundgewebszellen im weiten Umkreis um die Leitbündel kräftig vital gefärbt. Die Ovula bleiben ungefärbt.

Zea mays. Keimpflanzen: nach 10—24 Std. sind die Blätter dunkelrot. Die langgestreckten Parenchymzellen neben den Leitbündeln und die Mesophyllzellen sind vital kräftig rot gefärbt.

Daucus carota. Starke Rüben: diese wurden unten angeschnitten und in die Farbstofflösung getaucht. Nach 3—24 Std. sind die Membranen der Gefäße stark gefärbt und in ihrem Lumen reichliche, farbige Niederschläge zu finden. Vitalfärbung der anliegenden Parenchymzellen konnte nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden¹⁾.

1) In der Nähe der Gefäßgruppen, ferner in der Rinde macht sich eine auffallende Membranfärbung bemerkbar: Die Zwickel der schwach collenchymatisch verdickten Membranen, an andern Stellen die Mittellamellen sind streckenweise dunkelrot gefärbt; in der Rinde sieht man knoten- oder linsenförmige Einsprengsel in den Mittellamellen, welche dieselbe dunkelrote Färbung angenommen haben. Vielleicht ist diese Tinktion, die namentlich nach Behandlung der Schnitte mit KNO_3 -Lösung sehr auffällig wird, geeignet, das Studium der Mittellamelle zu fördern; über die Membranbeschaffenheit bei *Daucus carota* vergl. Chalon, Notes de botanique expérimentale. 2. édit. 1901 p. 80.

- Lathyrus aphaca*. Beblätterte Sproßstücke: nach 24 Std. sind die Nebenblätter auffallend dunkel gefärbt. Die Färbung trifft in erster Linie die Membranen, doch wurde auch vitale Farbstoffaufnahme mit Sicherheit nachgewiesen.
- Begonia metallica*. Beblätterte Sproßstücke: nach 24 Std. sind die Spreiten tief rot. Hauptsächlich sind die Membranen gefärbt; daneben wurde kräftige Vitalfärbung z. B. in den Zellen der unterseitigen Epidermis gefunden.
- Tropaeolum majus*. Langgestielte Blätter: nach 20 Std. sind die Stiele dunkelrot; sämtliche lebende Zellen ihres Parenchyms sind vital außerordentlich kräftig gefärbt.
- Sedum telephium*. Sprosse: nach 20 Std. zeigen die Blätter in durchfallendem Lichte verwaschene rote Aderung; sehr starke Färbung zeigen die jugendlichen Blätter namentlich in der Nähe der stumpfen Blattzähne. Die Parenchymzellen in der Nähe der Leitbündel sind mehr oder minder stark vital gefärbt. — Auch in den Tracheiden fand ich zuweilen rotgefärbten plasmolysierbaren Inhalt.
- Digitalis purpurea*. Weißblühende Sprosse: nach 24 Std. rote Flecke in den Kronen. Nach ca. 24 Std. zarte rote Längsstreifung. Mehrere Zellenreihen des Parenchyms neben den Leitbündeln haben sich vital stark gefärbt. Plasmolysierbarer rot gefärbter Inhalt zuweilen auch in den Tracheiden der Leitbündel nachweisbar.
- Philadelphus coronarius*. Blätter- und blümentragende Sproßstücke: nach 2 Std. deutliche Rötung der Blumenkronen; nach 20 Std. erheblich stärkere Färbung. Die neben den Leitbündeln liegenden Zellen sind vital sehr kräftig gefärbt. Die von jenen entfernter liegenden Sternparenchymzellen schwach gefärbt; nach Plasmolyse ist auch bei ihnen die Färbung deutlich zu erkennen. Starke Speicherung des Farbstoffes in den Zellen der Narbe, ferner im Grundgewebe der Kelchblätter; schwächer ist die Färbung in den Laubblättern.
- Nymphaea alba*. Blüten: nach 16 Std. auf den Blumenkronen und namentlich den Kelchblättern unregelmäßige rote Fleckung und Streifung; deutliche Vitalfärbung der Parenchymzellen neben den Leitbündeln. In den Gefäßen rot gefärbte Massen. Ähnliche vitale Rotfärbung habe ich mit demselben Farbstoff bei den Laubblättern und Blüten zahlreicher anderer Pflanzen feststellen können.

Coccerin.

- Allium cepa*. Zwiebeln: Die Objekte wurden unten angeschnitten und in Farbstofflösung gestellt. Nach 24 Std. an den äußersten Zwiebelschuppen rote Streifung und Aderung bemerkbar. Nach 2×24 Std. Untersuchung des Inneren, das in fast allen seinen Teilen mehr oder minder stark gerötet ist; kräftig rot gefärbte Stellen wechseln mit farblos gebliebenen. An den gefärbten Stellen haben die neben den Leitbündeln liegenden Grundgewebszellen reichliche Farbstoffmengen in sich aufgenommen; selbst die unmittelbar unter der Epidermis liegenden Schichten zeigen noch vitale Färbung; in den Zellen der Epidermis selbst ist Färbung nicht mit Sicherheit zu erkennen.
- Iris xiphoides*. Blühende Sprosse: schon nach 7 Std. am Rand der äußeren und inneren Perigonblätter zarte rote Flecke. Nach 24 Std. kräftige Vitalfärbung in den Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel und namentlich in den Narben.
- Funkia oata*. Infloreszenzen: nach 24 Std. längs den Nerven deutliche Rotfärbung im Perigon; die Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel zeigen kräftige vitale Rotfärbung.

- Solanum tuberosum*. Unreife Knollen: diese wurden angeschnitten und mit der Wundfläche in die Farbstofflösung getaucht. Nach 2×24 Std. zeigten die in der Nähe der Leitbündel liegenden Grundgewebszellen deutliche vitale Rotfärbung.
- Adonis aestivalis*. Beblätterte Sproßstücke: schon nach 4—5 Std. sind die Spitzen der Blätter deutlich rot gefärbt. Sowohl die Epidermis- als auch die Mesophyllzellen haben reichliche Mengen von dem Farbstoff in sich aufgenommen.
- Sedum telephium*. Beblätterte Sprosse: Nach 20 Std. zeigen die Blätter kaum wahrnehmbare Rotaderung in der Nähe der Blattspitzen. Entfernt man an den Blättern streifenweise die unterseitige Epidermis, so tritt an den verwundeten Stellen im Mesophyll erheblich stärkere Rotaderung auf; die den Leitbündeln auliegenden Grundgewebszellen zeigen kräftige Vitalfärbung.
- Philadelphus coronarius*. Blühende Sproßstücke: schon nach 2 Std. tritt an den Blumenkronen Rotfärbung auf. Nach 20 Std. findet man neben den Leitbündeln starke Vitalfärbung der Grundgewebszellen. Auch in den sternparenchymatischen Anteilen des Grundgewebes, die nicht unmittelbar an den Leitbündeln liegen, ist vitale Färbung deutlich erkennbar.
- Oralis acetosella*. Blätter: nach 48 Std. ist namentlich an den Einkerbungen der herzförmigen Foliola deutliche Vitalfärbung nachweisbar.
- Trifolium hybridum*. Beblätterte Sproßstücke: nach 4 Std. sind die Blätter rot genervt und rot gerändert; in den Grundgewebe- und Epidermiszellen starke vitale Farbspeicherung.
- Lathyrus aphaca*. Blüten: die Kronenblätter erscheinen nach 24 Std. deutlich rot geadert: die Zellen neben den Leitbündeln sind vital gefärbt.

Ponceau P. R.

- Ruta graveolens*. Blühende Sprosse: in den Fruchtknoten und den Stengeln nach 2×24 Std. mäßig starke Vitalfärbung der Parenchymzellen und der lebenden Anteile der Leitbündel erkennbar.
- Iberis umbellata*. Sproßstücke: in den Grundgewebezellen der Laubblätter nach 2×24 Std. kräftige Vitalfärbung erkennbar. Desgl. im Perikarp der unreifen Früchte.
- Vicia faba*. Junge Sprosse: nach 24 Std. ist in den Parenchymzellen neben den Leitbündeln schwache Vitalfärbung erkennbar.
- Allium cepa*. Zwiebeln: nach 24 Std. stellenweise schwache Rotaderung der äußersten Zwiebelschuppe. An diesen Stellen deutliche Vitalfärbung der neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen.
- Tropaeolum majus*. Blätter: nach 24 Std. deutliche Vitalfärbung in den Parenchymzellen neben den Leitbündeln. Starke Färbung der Membranen.

Ponceau 2 R.

- Tropaeolum majus*. Blätter: nach 24 Std. deutliche Vitalfärbung in den Parenchymzellen in der Nähe der Leitbündel. Außerdem starke Färbung der Membranen, die stellenweise den Nachweis der Vitalfärbung erschweren kann.

Bordeaux R.

- Allium cepa*. Zwiebeln: nach 24 Std. sind die Zwiebelschuppen zart rot geadert. Deutliche Vitalfärbung der neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen.
- Vicia faba*. Sprosse: nach 24 Std. schwache, aber deutliche Vitalfärbung der Parenchymzellen neben den Leitbündeln des Stengels.

Echtröt B.

Iberis umbellata. Blühende Sprosse: nach 20 Std. auf den Blumenkronblättern feine rote Punktierung und Streifung; schwache, aber nach Plasmolyse deutlich erkennbare Vitalfärbung der Epidermis- und der Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel.

Oenothera speciosa. Blühende Sprosse: nach 14 Stunden starke rote Aderung der Blumenkrone; kräftige Vitalfärbung der Epidermis- und Grundgewebszellen.

Silybum marianum. Blätter: nach 3×24 Std. feine rote Aderung; deutliche Vitalfärbung in den Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel.

Biebricher Scharlach.

Allium cepa. Zwiebeln: Nach 5 Std. feine rote Aderung. In der Nähe der Leitbündel sind die Parenchymzellen deutlich vital gefärbt.

Tropaeolum majus. Langgestielte Blätter: in den Stielen nach 24 Std. starke Membranfärbung und in den Zellen des Phloëms stellenweise mehr oder minder schwache Vitalfärbung.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 20 Std. deutliche Rotfärbung am Rand der Korollen; Vitalfärbung nirgends mit Sicherheit nachweisbar.

Vicia faba. Sprosse junger Pflanzen. Die Gefäßmembranen überall stark gefärbt. Vitalfärbungen nirgends erkennbar.

Orange G.

Epipactis palustris. Blütenstände: nach 4 Stunden sind die Perigonblätter völlig rostfarben; Epidermis- und Grundgewebszellen zeigen sehr kräftige Vitalfärbung.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 4 Std. sind die Blumenkronen hell ockerfarben; die Epidermis- und Grundgewebszellen sind auch in beträchtlichem Abstand von den Leitbündeln sehr kräftig gefärbt.

Philadelphus coronarius. Blüten: nach 4 Std. ist die Krone deutlich gelb gefärbt; die Grundgewebszellen neben den Leitbündeln zeigen starke vitale Gelbfärbung.

Iberis umbellata. Blütenstände: nach 18 Std. starke Gelbfärbung der Kronen; namentlich die voll entfalteten oder schon dem Verblühen sich nähernden Kronen sind dunkel apfelsinenfarben. In Epidermis und Grundgewebe sehr kräftige Vitalfärbung.

Oenothera speciosa. Blüten: nach 24 Std. namentlich im Grundgewebe außerordentlich starke Vitalfärbung.

Methylorange.

Epipactis palustris. Blütenstände: nach 6 Std. in den Perigonblättern Vitalfärbung sehr kräftig.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 6 Std. ähnlicher Befund.

Oenothera speciosa. Blüten: nach 14 Std. mäßig starke Speicherung in den Zellen der Epidermis und des Grundgewebes längs den Leitbündeln.

Guineagrün.

Epipactis palustris. Blühende Sprosse: nach 5 Std. sind die Perigonblätter, namentlich das Labellum, deutlich grün geadert. In den Leitbündeln und ihrer Nachbarschaft sind die Zellmembranen stark gefärbt. Vitalfärbung des Zellinhalts konnte nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Solanum tuberosum. Unreife Knollen (Behandlung wie oben S. 266): nach 2×24 Std. Färbung der Gefäßmembranen und der ganz schwach collenchymatisch verdickten Membranzwickel in der Nähe der Leitbündel. Vitalfärbung konnte nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Oenothera speciosa. Blühende Sproßstücke: nach 13 Std. sind die Kronblätter prächtig grün geadert. Die Membranfärbung ist dadurch besonders auffallend, daß sich die Köpfchen an den Radialleisten der Epidermiszellen tiefgrün färben. Vitalfärbung nicht mit Sicherheit nachgewiesen.

Iberis umbellata. Blühende Sprosse: nach 24 Std. erscheinen die Blumenkronblätter zart grün gefleckt. In Epidermis und Grundgewebe sind in der Nachbarschaft der Leitbündel die Zellen deutlich vital gefärbt. Namentlich nach Plasmolyse ist die Vitalfärbung mit unverkennbarer Deutlichkeit festzustellen.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 5 Std. sind die Blumenblätter zart grün geadert. Schwache Vitalfärbung wenigstens in den Epidermiszellen mit Sicherheit nachgewiesen.

Lichtgrün F. S.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: nach 2×24 Std. namentlich in den Parenchymzellen neben den Leitbündeln im Fruchtknoten reichliche Vitalfärbung deutlich zu erkennen.

Lilium candidum. Blüten: nach 24 Std. namentlich unmittelbar unter den Narbenköpfen starke Grünfärbung; hier auch die Vitalfärbung der den Leitbündeln anliegenden Zellen leicht nachweisbar.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. sind die Kronen tief grün gerändert. Vitalfärbung der Epidermis- und der Grundgewebszellen.

Naphthalingrün.

Tilia ulmifolia. Beblätterte Zweigstücke: nach 2×24 Std. sind die Blattspreiten deutlich blaugrün geadert, ebenso die Hochblätter der Infloreszenzen. Die Stiele der jungen Früchte vielfach tief grün gefärbt. Bei mikroskopischer Untersuchung der Blattspreiten ergibt sich kräftige Farbstoffspeicherung in Epidermis- und Grundgewebszellen. Hier und da scheint der aufgenommene Farbstoff innerhalb der Zellen in sehr feinen Niederschlägen ausgefallen zu sein.

Iberis umbellata. Blütenstände: nach 2×24 Stunden sind die Blumenkronblätter namentlich an ihren Spitzen dunkelgrün gefärbt. Vitale Farbstoffaufnahme sehr leicht erkennbar.

Iris sibirica. Unreife Früchte: das Perikarp nach 2×24 Std. grün gefleckt oder grün geadert. Deutliche dunkelgrüne Vitalfärbung der Parenchymzellen.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 20 Std. prächtig grüne Aderung der Korollen; starke Vitalfärbung der neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen.

Tropaeolum majus. Sprosse: nach 24 Std. ist namentlich an den Blattstielen und Internodien die Blaufärbung sehr auffällig; im Grundgewebe ist die Vitalfärbung sehr leicht zu erkennen.

Wollviolett S.

Iberis umbellata. Blühende Sprosse: nach 3×24 Std. keinerlei Färbung wahrnehmbar.

Trifolium repens. Blätter und Blütenstände: ebenso.

Viola tricolor. Weiße Blüten: ebenso.

Ruta graveolens. Blühende Sproßstücke: nach 4×24 Std. schwarzviolette Tropfen in nachweislich lebenden Parenchymzellen in der Mitte des Fruchtknotens.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. Färbung der Gefäßmembranen in den Blattstielen. Vitalfärbung nirgends nachweisbar.

Silybum Marianum. Blätter: nach 3×24 Std. scheinen neben den Leitbündeln die Parenchymzellen vital schwache Blaufärbung angenommen zu haben.

Coleus hybridus. Sprosse: nach 24 Std. kräftige Membranfärbung in den Leitbündeln. Vitalfärbung nirgends nachweisbar.

Setopalin.

Tilia ulmifolia. Zweigstücke: nach 2×24 Std. sind die Blätter und die Hochblätter der Infloreszenzen deutlich blaugrün gefärbt. Namentlich fällt die tiefe Färbung an den „Gelenken“ der Blätter — am Grund des Blattstieles und am Grund der Spreite — auf. In diesen ist die kräftige vitale Färbung besonders leicht zu erkennen.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: besonders deutliche Vitalfärbung nach 2×24 Std. in den Parenchymzellen neben den Leitbündeln der Fruchtknoten; viele Schichten des Parenchyms sind kräftig blau gefärbt. In den Blumenkronblättern ebenfalls starke Vitalfärbung des Grundgewebes, daneben Färbung der Membranen.

Iberis umbellata. Junge Fruchtstände: in dem Parenchym der Achsen und des unreifen Perikarps sehr kräftige Vitalfärbung. Blaue Tröpfchen in den gefärbten Zellen der Stengel.

Allium cepa. Zwiebeln: Nach 4 Std. deutliche blaue Aderung in der äußersten Zwiebelschuppe. Die neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen haben sich vital gefärbt.

Vicia faba. Junge Sprosse: die neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen nach 24 Std. prächtig vital gefärbt.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. hellblaue Färbung der Kronen, der mittlere Teil ist am stärksten gefärbt. Die Ränder, welche bei Behandlung mit vielen anderen Farben besonders kräftig tingiert erscheinen, sind ganz zart gefärbt. Vitale Färbung deutlich erkennbar.

Lilium candidum. Blüten: zarte Blaustreifung am Grund der Kronblätter; vitale Färbung der neben den Leitbündeln liegenden Zellen.

Indigcarmin.

Digitalis purpurea. Infloreszenzen mit weißen Blüten: nach 24 Std. sind die Kronen zart blau geadert; die langgestreckten Zellen neben den Gefäßen enthalten kräftig blau gefärbten Zellsaft.

Hedera helix. Haftwurzeln: nach 24 Std. sind die jugendlichen Haftwurzeln hellblau gefärbt; die Parenchymzellen neben den Leitbündeln enthalten hellblauen Zellsaft, die Gefäße oft blaue Niederschläge.

Philadelphus coronarius. Blühende Sprosse: nach 2 Std. lassen die Kronen bereits leichte Blaufärbung erkennen, nach 20 Std. sehr viel kräftigere Färbung der Leitbündel; in den Gefäßen liegt blauer Niederschlag. Die Grundgewebszellen, welche den Leitbündeln anliegen, zeigen starke Membranfärbung; außerdem ist nach Plasmolyse Vitalfärbung des Zellinhaltes deutlich zu erkennen. Auch die Epidermiszellen nehmen den Farbstoff auf.

Pistia stratiotes. Die Pflanzen werden den Wurzeln beraubt und auf Farblösung gesetzt: nach 3×24 Std. zeigt sich im distalen Teil der Blätter deutliche blaue Aderung. Die Gefäße enthalten an jenen Stellen reichliche blaue Niederschläge. Deutliche

vitale Blaufärbung konnte besonders in den über den Leitbündeln oder diesen sehr nahe liegenden Zellen der oberseitigen Epidermis nachgewiesen werden.

Prunus cerasus. Unreife Früchte: im Perikarp war nach 2×24 Std. zarte blaue Aderung zu erkennen. In den Parenchymzellen neben den Leitbündeln schwache, aber deutlich erkennbare Farbstoffaufnahme.

Tropaeolum majus. Blätterreiche Sproßspitzen: nach 24 Std. erscheinen die ausgewachsenen und halberwachsenen Blattspreiten deutlich blau geadert; in der Nähe der Hydathoden ist die Blaufärbung ziemlich dunkel. Die jüngsten Blätter (8 mm Durchmesser oder noch kleiner) lassen keine Färbung erkennen. Die Gefäße sind mit blauem Niederschlag gefüllt; die in der Nähe der Leitbündel liegenden Grundgewebszellen und die oberseitigen Epidermiszellen lassen deutlich vitale Blaufärbung erkennen.

Epipactis palustris. Blühende Sprosse: nach 24 Std. sind namentlich die Blätter des inneren Perigonkreises kräftig blau. Die vitale Farbstoffaufnahme ist namentlich in den Grundgewebszellen, welche den Leitbündeln anliegen, deutlich wahrnehmbar; sehr viel schwächer und erst nach Plasmolyse erkennbar ist die Färbung der Epidermiszellen.

Allium cepa. Zwiebeln: nach 3×24 Std. ist an den äußeren und inneren Schuppenblättern hellblaue Aderung wahrzunehmen. Manche Parenchymzellen in der Nähe der Leitbündel haben hellblauen Zellsaft, andere enthalten feine Farbstoffniederschläge.

Solanum tuberosum. Unreife Knollen: diese wurden angeschnitten und mit der Wundstelle in die Farbstofflösung getaucht. Nach 2 Tagen zarte blaue Aderung; die Parenchymzellen neben den Leitbündeln enthalten kleine Häufchen feinen Niederschlags. Bei Durchsicht zahlreicher Präparate fanden sich hier und da einige Grundgewebszellen mit blau gefärbtem Zellsaft.

Rosa-Arten. Hellrot blühende Sproßstücke: nach 20 Std. kräftige blaue Aderung der Kronblätter; Grundgewebs- und Epidermiszellen in der Nähe der Leitbündel enthalten blauen Zellsaft oder blaue Niederschläge.

Aegopodium podagraria. Blätter: die Blaufärbung ist im allgemeinen auch nach mehr tägiger Behandlung schwer zu erkennen. Sehr deutlich wird sie nur an den durch Insektenfraß geschädigten Stellen der Blattspreiten. Nach 2×24 Std. erscheinen dort die Leitbündel dunkelblau. Grundgewebs- und Epidermiszellen sind unmittelbar an oder über den Leitbündeln stark blau gefärbt; auch in größerem Abstand von diesen ist wenigstens nach Plasmolyse die Vitalfärbung deutlich zu erkennen.

Patentblau V.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. in dem Parenchym der Blattstiele Vitalfärbung deutlich nachweisbar.

Omphalodes unifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. sind die Kronen stark blau gerändert. Schwache Vitalfärbung der Epidermis- und Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel.

Iberis umbellata. Blühende Sprosse: nach 24 Std. in Blüten und Früchten keine Blaufärbung zu erkennen; in den Achsen zeigen die neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen schwache Vitalfärbung.

Patentblau A.

Lilium candidum. Blüten: nach 24 Std. zarte Blaustreifung; Vitalfärbung der neben den Leitbündeln liegenden Zellen sehr deutlich erkennbar¹⁾.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. in den Blüten keinerlei Färbung erkennbar.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: die Gefäßmembranen in den Stengeln deutlich gefärbt; auch in Knollen und Fruchtknoten keinerlei Vitalfärbung mit Sicherheit erkannt.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. in den Blattstielen keine Vitalfärbung erkennbar. Färbung der Gefäßmembranen, Niederschläge im Gefäßlumen.

Oxaminmarron.

Allium cepa (Zwiebeln), *Iberis umbellata* (Blütenstände), *Trifolium repens* (Blütenstände und Blätter), *Viola tricolor* (weiße Blüten) u. a. m.: auch nach mehrtägigem Aufenthalt in den Farbstofflösungen keine Vitalfärbung.

Tuchrot 3 G A.

Allium cepa. Zwiebeln: nach mehrtägigem Aufenthalt keine Vitalfärbung.

Philadelphus coronarius. Blühende Zweige: nach mehreren Tagen keine Vitalfärbung. Mit demselben negativen Ergebnis wurden zahlreiche andere Objekte untersucht.

Trypanrot.

Iberis umbellata. Blühende und fruchtende Sprosse: nach 24 Std. im Perikarp deutliche Rotaderung. Gefäßmembranen stark gefärbt. Vitalfärbung nirgends mit Sicherheit erkennbar.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: die Kronblätter nach 24 Std. deutlich rot geadert. In ihnen wie im Innern der Fruchtknoten sind die Membranen der Gefäße sehr stark gefärbt. Vitalfärbung nirgends mit Sicherheit nachgewiesen.

Hydrangea paniculata. Blütenstände: nach 24 Std. in den Randblüten zarte rote Aderung; nur Gefäßfärbungen, nirgends Vitalfärbung.

Nigrosin.

Allium cepa (Zwiebeln), *Epipactis palustris* (Blütenstände), *Oenothera speciosa* (Blüten), *Iberis umbellata* (Blütenstände), *Omphalodes linifolia* (desgl.), *Tropaeolum majus* (Blätter) u. v. a.: niemals wurde Vitalfärbung konstatiert.

Azoblau.

Allium cepa. Zwiebeln: auch nach mehrtägigem Aufenthalt in der Farbstofflösung keine Vitalfärbung.

Sedum telephium. Sprosse: nach 4×24 Std. keinerlei Vitalfärbung.

Omphalodes linifolia, *Iberis*, *Ruta graveolens* u. a. wurden mit negativem Erfolg geprüft.

Benzoreinblau.

Hydrangea paniculata. Blütenstände: nach 24 Std. in den Randblüten sehr zarte Blauaderung. Die Gefäßmembranen sind gefärbt; Vitalfärbung war nirgends nachweisbar.

1) Die gefärbten Blüten näherten sich schon ein wenig dem Verblühen!

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. sind die Kronblätter kräftig blau gerändert. Nur die Gefäßmembranen sind gefärbt; Vitalfärbungen nirgends mit Sicherheit nachweisbar.

Tropaeolum majus. Sproßstücke: in der Nähe der Schnittfläche nach 24 Std. kräftige Färbung der Gefäßmembranen. Vitalfärbung nirgends zu erkennen.

Bayrisch Blau.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. im Parenchym der Blattstiele keine Vitalfärbung erkennbar.

Campanula alliariaefolia (Blüten), *Omphalodes linifolia* (Blütenstände), *Iberis umbellata* (desgl.) u. a.: stets negative Ergebnisse.

Diamingrün B.

Tropaeolum majus. Sproßstücke: nach 24 Std. Färbung der Gefäßmembranen in den Achsen. Nirgends Vitalfärbung erkennbar.

Auch die Untersuchung anderer Pflanzen ergab, was die Vitalfärbung betrifft, nur negative Resultate.

Diaminreinblau.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: in den Fruchtknoten und Blütenstielen nach 24 Std. starke Färbung der Gefäßmembranen. Nirgends Vitalfärbung.¹

Auch bei anderen Objekten nirgends Vitalfärbung nachweisbar.

Kongobraun.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. sind in der Schnittfläche die Membranen der Gefäße gefärbt. Niederschläge in den Gefäßen. Keine Vitalfärbung.

Ruta graveolens. Blühende Sprosse: nach 24 Std. in den Fruchtknoten weder Membran- noch Vitalfärbung erkennbar.

Omphalodes linifolia (Blütenstände), *Iberis umbellata* (desgl.) u. a.: ebenfalls negative Resultate.

Kongorot.

Aegopodium podagraria (Blätter), *Allium cepa* (Zwiebeln), *Campanula* (weißblühende Arten, Blüten), *Digitalis* (desgl.), *Viola tricolor* (desgl.) und viele andere wurden untersucht. Niemals war Vitalfärbung zu erkennen.

Echtrot A.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. keinerlei Vitalfärbung.

Ebenso wenig an *Campanula alliariaefolia* (Blüten), *Omphalodes linifolia* (Blütenstände), *Iberis umbellata* (desgl.) u. a. Vitalfärbung erkennbar.

Nachtblau.

Allium cepa (Zwiebeln), *Viola tricolor* (weiße Blüten), *Trifolium repens* (Blätter und Blüten), *Iberis umbellata* (Blütenstände), *Sedum telephium* (Sprosse), *Philadelphus coronarius* (Blüten) u. a. wurden geprüft; niemals Vitalfärbung.

Indulin (wasserlös.).

Allium cepa (Zwiebeln), *Iberis umbellata* (Blütenstände), *Tropaeolum majus* (Blätter) u. v. a. wurden geprüft; niemals Vitalfärbung.

Aurantia.

Allium cepa. Zwiebeln: nach 3×24 Std. keinerlei Vitalfärbung.

Tropaeolum majus. Blütenstiele: nach 24 Std. starke Gelbfärbung der Gefäßmembranen. Vitalfärbung nicht mit Sicherheit nachzuweisen; zuweilen scheint lebendes Plasma einen leicht gelblichen Ton anzunehmen.

Chromgrün.

Philadelphus coronarius. Blühende Zweigstücke: nach 2×24 Std. sind die Blüten noch völlig farblos (makroskopische und mikroskopische Untersuchung).

Sedum telephium. Sprosse: auch nach 3×24 Std. keinerlei Färbung zu erkennen, auch an denjenigen Stellen der Blätter nicht, an welchen die Epidermis abgezogen worden war (s. o. S. 266).

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach 24 Std. keinerlei Färbung nachweisbar. *Ruta graveolens*. Beblätterte Sprosse: nach 24 Std. starke vitale Färbung der Grundgewebszellen in der Nähe der Leitbündel.

Vicia faba. Junge Sprosse: nach 20 Std. erscheinen die saftigen Internodien schon bei makroskopischer Betrachtung satt blaugrün. Bei keinem Objekte habe ich mich von dem Eindringen des Chromgrüns in ungeschädigte Zellen leichter überzeugen können als bei diesem. In der Nähe der Leitbündel sind zahlreiche Schichten des Grundgewebeparenchyms vital kräftig gefärbt; die Kerne und Chromatophoren der Zellen sind völlig normal.

Eosin.

Zur Verwendung kam stets nur 1‰ Lösung. Um die photodynamische Wirkung belichteter Eosinlösungen auszuschließen, wurden die Versuche stets in den Dunkelschrank gestellt.

Allium cepa. Zwiebeln: Versuchsanstellung wie oben. Nach 24 Std. beginnt sich bereits rote Streifung äußerlich bemerkbar zu machen. Nach 3×24 Std. fand ich sämtliche Schuppenblätter kräftig rosa gefärbt. Die Grundgewebszellen neben den Leitbündeln sind kräftig rosa gefärbt und sind deutlich plasmolysierbar; die Kerne sind anscheinend tot, wenigstens fand ich sie in sehr zahlreichen Zellen kräftig rot gefärbt. Die Epidermen der Blattoberseiten sind namentlich bei den innersten Schuppenblättern stark gefärbt; die Kerne sind gefärbt, das Plasma aber noch deutlich kontrahierbar. Ob unter diesen Umständen das Eosin zu den intravital färbenden Stoffen gerechnet werden soll, darf m. E. deswegen nicht fraglich sein, weil ich bei den oberseitigen Epidermen mancher Zwiebelschuppen schwache, aber nach Plasmolyse unzweifelhaft deutliche Vakuolenfärbung nachweisen konnte, die nicht mit Färbung der Zellkerne kombiniert war; die Plasmolyse dieser Zellen verlief ebenso wie bei den mit gefärbten Kernen ausgestatteten Zellen völlig normal. Weiterhin möchte ich erwähnen, daß auch diejenigen Zellen, deren Kerne sich kräftig gefärbt hatten, nach 7×24 Std. ebenfalls noch kontrahierbares, also lebendes Plasma besaßen. — Verschiedene Zwiebeln gleicher Varietät verhielten sich übrigens recht verschieden.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: nach $1\frac{1}{2}$ Std. zeigen die Blumenkronen kräftige rote Aderung. In den Epidermis- und Grundgewebezellen ist nach Plasmolyse deutliche Vitalfärbung erkennbar.

Solanum tuberosum. Unreife Knollen: Versuchsanstellung wie oben. Membranfärbung. Vitale Färbung des Zelleninhalts nirgends mit Sicherheit beobachtet. — Negative Befunde auch bei zahlreichen anderen Objekten.

Erythrosin.

Alle Versuche wurden im Dunkelschrank angestellt.

Ruta graveolens. Beblätterte Sproßstücke: nach 24 Std. nehmen die Blätter einen leichten rötlichen Ton an; die Grundgewebszellen neben den Leitbündeln sind vital gefärbt.

Allium cepa. Zwiebeln: Behandlung und Erfolg ähnlich wie bei den Eosinversuchen; nach 4 Tagen vitale Färbung der Parenchymzellen neben den Leitbündeln.

Tropaeolum majus. Blätter: in dem Parenchym der Blattstiele nach 10 Std. deutliche Vitalfärbung nachweisbar.

Echtsäurephloxin.

Alle Versuche wurden im Dunkelschrank angestellt.

Allium cepa. Zwiebeln: nach 24 Std. hier und da an den Zwiebelschuppen schwachrote Aderung. Vitale Färbung der neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen deutlich erkennbar.

Omphalodes linifolia. Blühende Sprosse: schwache Rötung am Rand der Blumenkronen; schwache Vitalfärbung der Zellen neben den Leitbündeln.

Tropaeolum majus. Blätter: nach 24 Std. haben die Blattstiele einen leicht rötlichen Ton; nach Plasmolyse ist in den Grundgewebszellen Vitalfärbung überall leicht zu erkennen.

Galläin¹⁾.

Epipactis palustris (blühende Sprosse), *Philadelphus coronarius* (Blüten), *Iberis umbellata* (Blütenstände), *Omphalodes linifolia* (desgl.) u. a.: niemals war Vitalfärbung zu konstatieren.

Diskussion der Ergebnisse.

Die auf den vorangehenden Seiten mitgeteilten Ergebnisse weichen in mehr als einer Hinsicht von denjenigen ab, welche frühere Autoren bei ihren mit Pflanzenzellen angestellten Untersuchungen zu verzeichnen gehabt haben; es handelt sich dabei nicht um geringfügige und vereinzelte Differenzen, die man auf spezifische Eigentümlichkeiten der verschiedenen untersuchten Pflanzenarten zurückzuführen geneigt sein möchte, sondern um eine Reihe prinzipieller Unterschiede, die eine eingehende Besprechung notwendig machen.

Wir betrachten zunächst die Sulfosäurefarbstoffe. Ruhland nennt sie „im allgemeinen nicht aufnehmbar“ und stimmt darin mit den Äußerungen früherer Autoren überein. Schon Pfeffer hebt hervor, daß Indigkarmin nicht in lebende Pflanzenzellen einzudringen vermöge; dasselbe stellt Pfeffer für Nigrosin fest.

1) Der Farbstoff wurde heiß gelöst und nach dem Erkalten filtriert.

Overton nennt Säurefuchsin, Ponceaurot, Bordeauxrot und andere Sulfosäuren unter den nicht aufnehmbaren.

Am eingehendsten hat sich Ruhland über die Permeabilität des pflanzlichen Plasmas für Sulfosäurefarbstoffe geäußert. Ponceaurot, Orange G, Wollviolett S, Echtrot B, Tuchrot 3 G A, Oxaminmarron, Bayrisch Blau u. a. dringen nach Ruhland nicht in die lebende Zelle ein, während bei Methylorange, Bordeauxrot, Fuchsin S und einigen andern von demselben Autor „in einzelnen Fällen eine Aufnahme des Salzes festgestellt wurde“.

Meine eigenen Untersuchungen lassen erkennen, daß eine erheblich größere Zahl von Sulfosäurefarbstoffen das lebende pflanzliche Plasma zu permeieren vermag; ich bestätige Ruhlands Angaben für Methylorange, Bordeauxrot und Fuchsin S und füge hinzu, daß auch Ponceaurot, Orange G, Wollviolett S, Echtrot B und außer diesen noch verschiedene andere saure Farben, welche Ruhland nicht in der Liste der von ihm untersuchten Verbindungen nennt, unter den bei meiner Versuchsanstellung verwirklichten Bedingungen in die lebende Pflanzenzelle einzudringen imstande sind. Die Permeabilität pflanzlichen Protoplasmas für Sulfosäurefarbstoffe ist demnach sehr erheblich größer und weiter verbreitet als man bisher anzunehmen Veranlassung hatte. Die von mir mit Fuchsin S oder Coccinin angestellten Versuche zeigen, daß die Permeabilität der lebenden Zellen für die genannten Sulfosäurefarbstoffe nicht etwa das Privilegium einiger weniger Arten ist, sondern außerordentlich vielen Gewächsen zukommt. Dieselben Versuche zeigen ferner, daß nicht etwa die Sulfosäurefarbstoffe nur spurenweise in den Zellen nachweisbar werden, sondern enorm reichlich im Zellensaft erscheinen: die mit Fuchsin S, Coccinin u. a. erzielten Vitalfärbungen kommen fast stets durch sehr starke Speicherung des Farbstoffes zustande.

Ähnlich günstig wie Fuchsin S und Coccinin sind für Vitalfärbungsversuche namentlich Naphthalin grün und Orange G; das letztere sah ich bei verschiedenen Objekten erstaunlich schnell in den lebenden Zellen sich anhäufen. Auch Setopalin und Lichtgrün F S werden schnell und reichlich aufgenommen. Schwächere Färbungen erzielte ich z. B. mit Ponceaurot und Bordeauxrot, mit Biebricher Scharlach und mit Indigkarmin. Ob die Färbungen, welche ich mit letzterem erzielte, vielleicht infolge reduzierender Wirkungen des lebenden Zellinhalts stets schwach blieben, bedarf der näheren Untersuchung.

Wollviolett S unterscheidet sich in seinem Verhalten den Zellen von *Ruta* gegenüber insofern von den untersuchten vital färbenden Sulfosäurefarbstoffen, als es den Zellsaft ungefärbt läßt, welchen diese bald schwächer, bald stärker, nicht selten sogar erstaunlich kräftig zu färben imstande sind. Indigkarmin nimmt insofern eine besondere Stellung ein, als es in den vital gefärbten Zellen sehr häufig ausfällt und in Form von feinen Niederschlagsanhäufungen von der Permeabilität der Zelle Kunde gibt.

Bei Verwendung von Fuchsin S, Coccinin, Orange G, Naphthalin-grün u. a. ist die Färbung des Zellsaftes so stark, daß an der Speicherung des Farbstoffes innerhalb der Zellen kein Zweifel bestehen kann. Welche Stoffe es sein mögen, welche in der Zelle die Speicherung der Sulfosäurefarbstoffe herbeiführen, bleibt freilich unklar; höchst wahrscheinlich werden oft schon relativ geringe chemische Änderungen, die sich im Innern der Zelle abspielen, genügen können, um die eingedrungenen Farbstoffe in eine kolloidale Modifikation überzuführen.

Namentlich mit Zellen, welche in sich Fuchsin S und Naphthalin-grün reichlich gespeichert hatten, wurden Versuche angestellt, den in den Zellen liegenden Farbstoff durch Auswaschen wieder zu entfernen. Schnitte durch das unreife Perikarp von *Iris sibirica* eignen sich zu solchen Versuchen deswegen sehr gut, weil die Zellen des Perikarpgewebes sehr widerstandsfähig sind und ein vieltägiges Lagern im Wasser gut vertragen. Schnitte aus fuchsingefärbten Früchten blieben eine Woche im Wasser, ohne merklich heller zu werden; auch fließendes Leitungswasser (4×24 Stunden) vermochte keine merkliche Entfärbung zu bewirken. Versuche mit Naphthalin-grün V führten zu ähnlichen Resultaten; viele Zellen sterben allerdings, wenn man die Perikarpschnitte in Wasser legt, nach einigen Tagen ab, in anderen erfahren nur die Chlorophyllkörner degenerative Veränderungen, ohne daß das Protoplasma seine Kontraktilität verlöre oder der Zellsaft seine Farbe ausströmen ließe.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich erwähnen, daß manche Objekte außerordentlich lange mit gefärbtem Zellsaft am Leben bleiben können: unreife Früchte von *Iris sibirica* ließ ich 14 Tage in 2 ‰ Fuchsin S-Lösung stehen; das Perikarp färbte sich tiefrot; weitere 14 Tage ließ ich denselben Fruchtstand von *Iris* in Leitungswasser stehen, ohne daß die gefärbt bleibenden Zellen irgendwie Schaden genommen hätten: Plasma, Zellkern und

Chromatophoren blieben durchaus normal, die Kontraktilität des Plasmas blieb erhalten. Ähnliche Resultate erhielt ich mit stark fuchsingefärbten Fruchtständen von *Iberis umbellata*, mit Sprossen von *Tropaeolum majus* u. a. —

Einige Worte der Erklärung beansprucht das Verhalten des Wollviolett S. Ruhland beschäftigt sich eingehend mit diesem Farbstoff, welcher lipoidlöslich ist, trotzdem aber nicht in die lebenden Zellen einzudringen imstande sei. Höber hat bei der Nachprüfung dieser Angaben ebenfalls sich vergebens bemüht, *Spirogyra*-Zellen mit Wollviolett S intravital zu färben, warnt aber davor, aus dem Ausbleiben der Färbung weitgehende Schlüsse über die Impermeabilität des Plasmas diesem Farbstoff gegenüber zu ziehen; Wollviolett S sei nämlich dadurch ausgezeichnet, daß seine Lösungen von den in lebenden Zellen enthaltenen Stoffen außerordentlich leicht entfärbt werden. Meine eigenen Versuche mit Wollviolett S verliefen meist ergebnislos (s. o.); mit Sicherheit konnte ich das Eindringen der Farbe in die lebende Zelle nur bei *Ruta graveolens* konstatieren: in den Parenchymzellen, welche in der Nähe der Leitbündel des Fruchtknotens liegen, bleibt der Zellsaft vollkommen farblos, aber man sieht nach Behandlung mit Wollviolett S dunkelblaue Tröpfchen in den Zellen liegen; die Permeabilität des Plasmas für Wollviolett ist damit erwiesen¹⁾.

Chromgrün wurde von Ruhland und Höber untersucht. Ruhland sagt von dem Farbstoff, daß er in lebende, unbeschädigte Zellen nicht einzudringen vermag. „Verwendet man eine starke, schwarzblau gefärbte Lösung, so zeigen sich nach kurzer Zeit Deformationen im Plasma, der Kern ist tot, und nun erst ergibt sich ein schöner blauer Tannatniederschlag. Auch in Zellen anderer Pflanzen tritt der Farbstoff erst ein, wenn eine Schädigung sichtbar ist. Der Plasmaschlauch kann zwar noch kontraktile sein, der Kern ist dann aber bereits tot und speichert ebenfalls Farbstoff.“ Höber ist

1) Ob das Ausbleiben einer vitalen Wollviolettfärbung auf eine von den lebenden Pflanzenzellen ausgehende entfärbende Wirkung zurückzuführen ist, welche etwa eingedrungenes Wollviolett unsichtbar werden läßt, muß dahingestellt bleiben. Versuche mit Wollviolettreaugenpapier (Filtrierpapier mit 0,1 % Wollviolettlösung getränkt und getrocknet) ließen zwar erkennen, daß der aus angeschnittenen lebenden Pflanzenorganen ausfließende oder gewaltsam ausgepreßte Saft Wollviolett entfärbt (*Tropaeolum majus*, *Ruta graveolens* u. a.); einen Beweis für die intracelluläre entfärbende Wirkung, welche Höber wahrscheinlich mit Recht annimmt, wird man hierin allerdings noch nicht sehen dürfen.

anderer Meinung und teilt mit, daß Chromgrün die Zellen der *Spyrogyren* „langsam, aber deutlich und intravital“ färbt. Meine eigenen Untersuchungen haben mit einigen Pflanzen bekannt gemacht, an welchen sich in Übereinstimmung mit Höbers Angaben Vitalfärbung deutlich nachweisen läßt (s. o.).

Der Nitrofarbstoff *Aurantia* wird nach Ruhland von der lebenden Zelle nicht aufgenommen; ein sicheres Beispiel für vitale *Aurantia*färbung habe auch ich nicht ausfindig machen können (s. o.).

Die fluoreszierenden *Pyronin*farbstoffe *Eosin*, *Erythrosin* und *Echtsäurephloxin* werden nach Ruhland nicht vital aufgenommen. Ich habe oben hinreichend ausführlich über die färbende Wirkung des *Eosins* auf Zellsaft und Zellkern gesprochen; auch wenn man diejenigen Fälle, in welchen der Zellkern eosingefärbt erscheint, nicht als unzweideutige Beweise für die Permeabilität lebenden Protoplasmas gelten lassen will, werden die mit *Eosin* erzielten Epidermisfärbungen und die einwandfreien Vitalfärbungen mit *Erythrosin* und *Echtsäurephloxin* genügen, um die Permeabilität lebender Pflanzenzellen für die genannten fluoreszierenden Farbstoffe zu erweisen.

Die von mir untersuchten Farben zeigen, wie die Versuchsprotokolle erkennen lassen, ein sehr verschiedenes Verhalten: viele dringen in die lebende Zelle nicht ein, viele andere dringen ein, — bald schnell und in reichlichen Mengen, bald langsam und spärlich, soweit der mikroskopische Befund hierüber Aufschluß geben kann. Läßt sich irgend eine Gesetzmäßigkeit erkennen, die über Eindringen oder Nichteindringen der Farbstoffe entscheidet?

Zunächst wäre an Overtons Lipoidtheorie zu denken. Overton nimmt an, daß die äußerste Plasmanschicht der Zellen mit einem Cholesterin-Lecithingemisch imprägniert sei, und daß dieses über das Eindringen und Nichteindringen der von außen gebotenen Stoffe entscheide. Stoffe, welche in dem Cholesterin-Lecithingemisch löslich sind, permeieren in die Zelle; Stoffe, welche sich nicht in ihm lösen, können nicht in die Zelle eindringen.

In dem Verhalten verschiedener Farbstoffe hat Overton eine besonders tragkräftige Stütze seiner Theorie gefunden: lipoidlöslich sind z. B. Methylenblau, Safranin, Toluylenrot, Gentianaviolett, Dahlia, Bismarckbraun u. v. a., lipoidunlöslich sind neben vielen anderen wasserlösliches Nigrosin, Kongorot usw. — Farben, bei welchen die Lipoidlöslichkeit sich mit der Permeierfähigkeit, die

Lipoidunlöslichkeit sich mit der Unfähigkeit zum Permeieren nach Overtons Untersuchungen decken.

Ruhland hat darauf aufmerksam gemacht, daß die von Overton gefundenen Beziehungen keine ausnahmslose Regel, kein Gesetz bedeuten: es gibt lipoidlösliche Farben, welche nicht oder nur sehr langsam eindringen, und andererseits lipoidunlösliche, welche leicht eindringen. Als Beispiele für den ersten Fall nennt Ruhland Nachtblau, Tuchrot 3 G A, Oxaminmarron, Echtrot A, Wollviolett S, Cyanosin, Erythrosin, Chromgrün, Aurantia und einige andere, als Beispiele der zweiten Reihe werden Malachitgrün, Thionin, Methylengrün und Bismarckbraun angeführt. Höber hat Ruhlands Angaben nachgeprüft und die meisten von ihnen bestätigt. Die angeführten Befunde und eine Reihe weiterer Beobachtungen, auf die hier nicht eingegangen zu werden braucht, führen Ruhland zu dem Schlusse, daß Overtons Lipoidtheorie nicht imstande ist, die Erscheinungen der Permeabilität des pflanzlichen Protoplasmas befriedigend zu erklären.

Meine eigenen Ergebnisse mit den oben aufgezählten Farben stehen einerseits mit den von Ruhland gegen Overtons Lehre vorgebrachten Einwänden, andererseits mit Overtons Befunden mehrfach in Widerspruch. Wollviolett S, welches nach Ruhland trotz leichter Lipoidlöslichkeit nicht zu permeieren vermag, wurde von mir in lebenden Zellen nachgewiesen; Chromgrün ist nach meinen Untersuchungen ebenso wie nach den von Höber angestellten (s. o.) imstande, in die lebende Pflanzenzelle einzudringen. Erythrosin, welches nach Ruhland und Höber Spirogyren nicht vital färbt, wurde von mir in verschiedenen Objekten vital färbend gefunden.

Während demnach auf der einen Seite eine Reihe meiner Befunde für Overtons Lehre spricht und die von Ruhland geäußerten Zweifel hinsichtlich der Berechtigung der Overtonschen Theorie einzuschränken scheint, geht andererseits aus meinen oben mitgeteilten Färberesultaten deutlich hervor, daß eine ansehnliche Zahl von Sulfosäurefarbstoffen, welche lipoidunlöslich sind, und nach Overtons Theorie keine Permeierbarkeit erwarten lassen sollten, leicht und reichlich in die Pflanzenzellen hineingeht.

Säurefuchsin, Coccinin, Ponceaurot, Bordeauxrot, Orange G, Indigkarmin, Guineagrün B, Setopalin, Naphthalingrün und Lichtgrün F S wurden als Vitalfarbstoffe erkannt, und die meisten von ihnen wurden in meinen Versuchen von den

lebenden Pflanzenzellen außerordentlich schnell und reichlich aufgenommen.

Die Widersprüche zwischen der Lipoidtheorie und meinen Befunden sind so zahlreich und so auffällig, daß es ohne weiteres klar ist, daß uns beim Suchen nach den Gesetzmäßigkeiten, welche über Eindringen und Nichteindringen entscheiden, die Lipoidtheorie nicht vorwärts helfen wird.

Nur mit einigen Worten mag auf die von Höber neuerdings aufgestellte Theorie eingegangen werden, nach welcher zahlreiche Farbstoffe einen ausgesprochenen Parallelismus zwischen ihrer elektrischen Ladung und ihrem Vitalfärbevermögen erkennen lassen. Die negativ elektrischen Farben können nach Höber in die Zelle nicht eindringen; die positiven, darunter auch das lipoidunlösliche Thionin, können es.

Auch diese von Höber aufgedeckten Beziehungen führen uns zu keiner befriedigenden Erklärung der eigenen Befunde, nachdem verschiedene sulfosaure Farben als vitale erkannt worden sind.

Befriedigendere Ergebnisse verspricht ein Vergleich zwischen Vitalfärbevermögen und der Diffusibilität der Farbstoffe. Ruhland und Höber haben über die letztere Untersuchungen angestellt, namentlich Höber hat die physikalischen Eigenschaften zahlreicher Farbstoffe geprüft, und die Aufnahme der Farben seitens der Froschtiere zu der Diffusibilität der Farbstoffe bzw. zu ihrer Kolloidität in Beziehung zu setzen versucht. Der genannte Autor hat seine Versuchsergebnisse in einer Tabelle zusammengestellt, die ich hier wiederholen möchte. Die vierte Kolumne der Tabelle berichtet über meine eigenen Versuche: da sich die Färbbarkeit der Pflanzenzellen verschiedenen Farbstoffen gegenüber nicht bei allen Pflanzen als gleich erwiesen hat, lege ich dieser Tabelle nur die an einer Species gewonnenen Erfahrungen zugrunde; es handelt sich in den Mitteilungen der vierten Kolumne der Tabelle nur um das Verhalten von *Tropaeolum majus*, das ich in der Weise feststellte, daß langgestielte Blätter der Kapuzinerkresse in die Farbstofflösungen gestellt wurden; nach 24 Stunden wurde das Parenchym der Blattstiele auf Vitalfärbung untersucht. *Tropaeolum* wurde gewählt, weil seine Blattstiele in 24 Stunden sehr viele Farbstoffe in leicht nachweisbaren Mengen intravital in ihren Zellen aufnehmen.

Farbstoff	Kolloidität	Von der Niere des Frosches importiert: stark +, wenig w, gar nicht —	<i>Tropaeolum</i> , Blattst.:	
			starke Vitalfärb. +	schwache " w
Indigkarmin	gering bis fehlend	+	+	
Orange I	desgl.	+		
Orange G G	desgl.	+	+ ¹⁾	
Ponceau B	desgl.	+		
Ponceau 2 R	desgl.	+	+	
Säurefuchsin	desgl.	+	+	
Patentblau V	desgl.	+	+	
Naphtholgelb	desgl.	+		
Coccin	desgl.	+	+	
Erioglaucin	desgl.	+		
Lichtgrün F S	desgl.	+	+	
Guineagrün B	desgl.	+	+	
Brillanterocein 3 B	desgl.	+		
Patentblau A	desgl.	+	—	
Säureviolett 6 B	mittelmäßig	+		
Anilinblau	desgl.	+		
Nigrosin	desgl.	w	—	
Indulin	desgl.	w	—	
Kongorot	stark	+	—	
Bayrisch Blau	desgl.	+	—	
Biebricher Scharlach	desgl.	+	w	
Hessisch Bordeaux	desgl.	w		
Salmrot	desgl.	w		
Croceinscharlach 7 B	desgl.	w		
Palatinschwarz	desgl.	w		
Diamingrün B	desgl.	—	—	
Kongobraun	desgl.	—	—	
Azoblau	desgl.	—	—	
Benzoazurin	desgl.	—		
Violettsschwarz	desgl.	—		
Alkaliblau 3 B	desgl.	—		
Berliner Blau	desgl.	—		

Höber hat später noch seine Untersuchungen erweitert und eine große Reihe anderer Farbstoffe nach denselben Gesichtspunkten geprüft. Ich nenne im folgenden wenigstens noch diejenigen Farben, die von ihm und mir untersucht worden sind, und stelle die von uns gewonnenen Ergebnisse in ähnlicher Weise wie in der ersten Tabelle zusammen.

1) Höber arbeitete mit Orange G G-Merck, ich mit Orange G-Grübler.

Farbstoff	Kolloidität	Höbers Versuche (Froschniere)	Eigene Versuche (<i>Tropaeolum</i>)
Setopalin	gering bis fehlend	+	+
Naphthalingrün V . .	desgl.	+	+
Echtsäurephloxin . .	desgl.	+	+
Wollviolett	desgl.	—	—
Echtrot B	halb hydrophil-kolloidal	+	+
Erythrosin	desgl.	+	+
Benzoreinblau	hydrophil-kolloidal	+	—
Trypanrot	desgl.	+	—
Diaminreinblau . . .	desgl.	+	—
Echtrot A	suspensions-kolloidal	+	—
Oxaminmarron	desgl.	—	—

Die Tabellen scheinen mir schon deswegen großes Interesse zu beanspruchen, weil sie an den Beziehungen zwischen der vitalen Aufnehmbarkeit der Farben seitens der Pflanzenzellen und ihrer Diffusibilität kaum noch einen Zweifel lassen.

Von sämtlichen Farbstoffen, deren Kolloidität Höber gering bis fehlend nennt, waren, soweit meine Untersuchungen reichen, nur zwei nicht imstande, binnen 24 Stunden die Parenchymzellen im Blattstiel von *Tropaeolum* vital zu färben, Patentblau A und Wollviolett S. Das erstere erwies sich auch (s. o.) bei Prüfung verschiedener anderer Gewächse als unfähig zur vitalen Färbung, andererseits vermochte es in lebende Zellen von *Lilium*-Blüten einzudringen. Die Ausnahme, welche Wollviolett S macht, ist insofern besonders beachtenswert, weil eben dasselbe Wollviolett auch bei Höbers Tierversuchen eine Ausnahmestellung einnimmt; daß das Wollviolett auf die negativen *Tropaeolum*-Versuche hin aber nicht schlechthin zu den „nicht vitalen“ Farbstoffen gerechnet werden darf, geht aus den positiven Versuchen mit *Ruta graveolens* hervor. Höber resümiert seine Versuche mit leicht diffundierenden Farbstoffen in dem Satze: „Wenn ein Farbstoff wenig, bzw. nicht kolloidal ist, so wird er leicht aufgenommen.“ Zu demselben Ergebnis führen auch die oben geschilderten Versuche mit Pflanzenzellen.

Wie steht es mit den kolloidalen Farbstoffen? Höber gibt an, daß selbst stark kolloidale Farbstoffe wie Kongorot, Bayrisch Blau und Biebricher Scharlach von den Nierenzellen reichlich aufgenommen werden können; andere hochkolloidale Farben wie Hessisch Bordeaux, Salmrot u. a. werden nur wenig, noch andere wie Diamin-grün B, Kongobraun, Azoblau u. a. werden gar nicht aufgenommen;

alle Farben andererseits, welche von den Nieren nicht aufgenommen werden, sind — außer Wollviolett S — stark kolloidal. Der Satz, den Höber ableitet: „wenn ein Farbstoff von den Epithelien der Niere nicht aufgenommen werden kann, dann ist er hochkolloidal“, darf daher nicht umgekehrt werden.

Bei meinen eigenen Versuchen läßt das Verhalten der kolloidalen Farbstoffe sehr viel größere Einheitlichkeit erkennen als bei Höbers Tierversuchen: selbst die mäßig stark kolloidalen Farbstoffe Nigrosin und Indulin haben in der auf *Tropaeolum* sich beziehenden Tabelle ebenso gut ihr Minus-Zeichen bekommen wie die stark kolloidalen Farben Kongorot, Bayrisch Blau, Azoblau, Oxamin-marron usw.

Völlig durchgeführt ist aber der Parallelismus zwischen der Kolloidität der Farben und der Permeabilität bzw. Impermeabilität der Pflanzenzellen auch hier nicht; denn Biebricher Scharlach, der sich bei Höbers Versuchen positiv verhielt, vermochte zuweilen auch *Tropaeolum* vital zu färben; verschiedene Blätter verhielten sich dem Farbstoff gegenüber nicht völlig gleich¹⁾; auch die mit anderen Pflanzen angestellten Versuche ergaben bald Vitalfärbung, bald Unfärbbarkeit (s. o.).

Weiterhin machen zwei von denjenigen Farbstoffen, welche Höber als halb-hydrophil-kolloidal bezeichnet: Echtrot B und Erythrosin eine Ausnahme; sie gehören beide zu den schwer fällbaren kolloidalen Farbstoffen. Das positive Resultat, welches meine Versuche mit den beiden Farben in Übereinstimmung mit denjenigen Höbers lieferten, wird aber nicht dazu verführen dürfen, eine Parallele zwischen Vitalfärbbarkeit und Fällbarkeit zu vermuten, — ich verweise auf den negativen Ausfall der mit den schwer fällbaren Trypanrot, Benzoreinblau und Diaminreinblau angestellten Pflanzenversuche (s. Tabelle).

Sehen wir von dem für Echtrot B, Erythrosin und ähnlichen Farbstoffen konstatierten Verhalten ab, so ergibt sich, daß nicht kolloidale Farbstoffe oder solche von geringer Kolloidität im allgemeinen leicht in Pflanzenzellen eindringen können, andererseits die kolloidalen Farbstoffe im allgemeinen zur Vitalfärbung der Pflanzenzellen ungeeignet sind. Welchen Grad dieser Mangel an Eignung bei den verschiedenen kolloidalen Farbstoffen erreicht, mag zunächst noch dahingestellt bleiben; denn es wäre sehr gut möglich,

1) Infolge ungleichen Alters?

daß unter denjenigen kolloidalen Farben, mit welchen ich auch bei Untersuchung verschiedenartiger Pflanzen und Pflanzenorgane niemals eine Vitalfärbung erzielen konnte, die eine oder andere sich findet, welche andere Versuchspflanzen doch zu färben vermag; auch darf nicht außer acht gelassen werden, daß bei der von mir geprüften Versuchsanstellung sehr geringe Farbstoffaufnahme leichter übersehen werden kann, als bei der Prüfung von Wurzelhaaren oder *Spirogyra*-Zellen. Auch wenn es gelingen sollte, Versuchspflanzen ausfindig zu machen, deren Zellen sich mit Azoblau, Kongorot usw. vital schwach färben, wird doch der Unterschied zwischen nicht (oder schwach) kolloidalen Farbstoffen und stark kolloidalen, wie ihn die Tabellen erkennen lassen, nicht in Abrede gestellt werden können. Ruhland resümiert seine Untersuchungen über die Kolloidität der Farbstoffe und ihre vitale Aufnahme in Pflanzenzellen dahin, daß nach ihm in keinem Falle unzweifelhaft erwiesen sei, „daß der Grad der Kolloidität entscheidend oder wesentlich mitbestimmend für die Aufnahme der Farbstoffe in lebende Zellen wäre“. Ich bin der Meinung, daß der von Ruhland geleugnete Zusammenhang bei den von mir untersuchten sauren Farbstoffen tatsächlich besteht, und Ruhlands Satz in seiner allgemeinen Fassung nicht aufrecht erhalten werden kann.

Höber unterscheidet zwischen physikalischer und physiologischer Stoffaufnahme: „physikalisch“ ist die Aufnahme derjenigen Farbstoffe, deren Permeieren durch Overtons Lipoidtheorie verständlich gemacht wird, „physiologisch“ sind diejenigen Stoffaufnahmeporgänge, welche mit jener Theorie nichts zu tun haben und ihr widersprechen. Physiologisch wäre demnach die von mir beobachtete Vitalaufnahme des Säurefuchsin, des Coccinins und zahlreicher anderer Sulfosäurefarbstoffe zu nennen. Nachdem zahlreiche Farbstoffe gefunden worden sind, welche trotz ihrer Lipoidunlöslichkeit und höchst wahrscheinlich infolge ihrer leichten Diffusibilität mit großer Schnelligkeit in die lebenden Zellen zu permeieren imstande sind, scheint mir noch weniger als vorher die Scheidung zwischen physiologischer und physikalischer Farbstoffaufnahme angebracht zu sein; die Vitalaufnahme des Säurefuchsin ist genau ebenso „physikalisch“ wie die des Methylenblau. Mir will es scheinen, daß die Höbersche Unterscheidung unnötig ist und leicht irreführend werden kann, und ich stimme hierin mit Ruhland durchaus überein.

Diejenigen sulfosauren Farbstoffe, welche nach meinen Untersuchungen der Overtonschen Theorie widersprechen, sind zum

Teil, so weit ich hierüber unterrichtet bin, auf ihr Vitalfärbevermögen pflanzlichen Zellen gegenüber von früheren Autoren noch nicht geprüft worden; die Mehrzahl von ihnen hat aber schon wiederholt zu botanisch-zellenphysiologischen Untersuchungen gedient: meine Resultate stimmen auch bei ihnen mit den Ergebnissen der früheren Autoren nicht überein, und es bedarf einer näheren Prüfung, worauf die Differenzen in den Ergebnissen verschiedener Untersucher zurückzuführen sein mögen. Säurefuchsin, Orange G und andere Farben werden, wie oben geschildert worden ist, so außerordentlich reichlich in den Zellen aufgenommen, daß die Annahme, es seien mit ihnen zwar Färbungen erzielt, ihr Vitalfärbevermögen sei aber bisher übersehen worden, nicht zulässig ist.

Die Differenz in den Resultaten liegt offenbar viel weniger in der Wahl der Untersuchungsobjekte als in den Bedingungen, unter welchen die Autoren den lebenden Pflanzen die verschiedenen Farbstofflösungen zugeführt haben, begründet. Algenzellen oder Wurzelhaare, welche in Farbsolutionen getaucht werden, befinden sich offenbar unter ganz anderen Bedingungen als die neben Gefäßen liegenden Pflanzenzellen, zu welchen von den Gefäßen her die Farbstofflösungen treten.

Die makroskopische Betrachtung der künstlich gefärbten Pflanzen macht es klar, daß überall da, wo kräftige Transpiration wirkt, die vitale Färbung sehr schnell eintritt und es zu sehr reichlicher Farbstoffaufnahme kommt: in den Blattspreiten und in den zarten Blumenkronblättern. Ferner erscheinen diejenigen Stellen, an welchen Hydathoden für besonders reichliche Wasserabgabe sorgen (*Tropaeolum*), hinsichtlich der Farbstoffaufnahme bevorzugt. Pflanzen, die man im feuchten Raume hält (Versuche mit *Zea mays* u. a.), färben sich viel später als solche, welche normal transpirieren können. Lokale Hemmung der Transpiration (Bedeckung von *Iris*-Blättern u. a. mit geschmolzener Kakaobutter) veranlaßt lokale Verzögerung der Vitalfärbung; lokale Förderung der Transpiration (Beseitigung der Epidermis an den Blättern von *Sedum telephium*) ruft eine Beschleunigung oder Verstärkung der Vitalfärbung hervor. Kleine Wunden, die sich an Blumenkronen oder Spreiten finden, lassen lokale Färbung besonders kräftiger Art zustande kommen, wobei das Wirksame wiederum die gesteigerte Transpiration ist¹⁾.

1) Wunden, welche man durch Kakaobutter schließt, rufen, wie ich mich durch Versuche an *Iris*- und *Sedum*-Arten überzeugen konnte, keine Förderung der Vitalfärbung hervor.

Die Transpiration hat, wie aus dem Gesagten hervorgeht, einen großen Einfluß auf das Tempo der Vitalfarbaufnahme und auf die Ausbreitung, in welcher sich die Vitalfärbung innerhalb des Gewebes oder Organes nachweisen läßt. Die oben geschilderten Färberversuche stellen geradezu ein vortreffliches Hilfsmittel dar, um stark transpirierende Stellen an intakten Pflanzenorganen leicht sichtbar zu machen und die große Bedeutung der Transpiration für die Stoffwanderung zu demonstrieren. Aber unbedingt erforderlich sind die Transpiration und die durch sie bewirkte Saugwirkung keineswegs für das Zustandekommen der Vitalfärbung mittelst lipoidunlöslicher Sulfosäurefarbstoffe. Das lehren außer den Vitalfärbungen, die ich im Innern massiver, mäßig stark transpirierender Organe (Fruchtknoten von *Iris*-Arten) erhielt, namentlich die Versuche, bei welchen das Untersuchungsobjekt vollkommen in die Farbstofflösung getaucht wurde: turgeszente, etwa 2 cm lange Stücke von den Internodien der Kapuzinerkresse wurden mehrere Tage in 2 ‰ Säurefuchsinlösung gelegt; nach drei Tagen waren die neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen sehr kräftig vital gefärbt.

Leider gelingt es nur schwer, das Verhalten intakter Pflanzenorgane, die von den Gefäßen her mit Farbstofflösung versorgt werden, mit dem der üblichen mikroskopischen Präparate zu vergleichen; bringt man die letzteren in hinreichend starke Farblösungen, so gehen sie zugrunde, noch bevor Farbstoffaufnahme eingetreten ist. Künftige Versuche werden hoffentlich mit Objekten bekannt machen, deren Zellen widerstandsfähig genug sind, um den gewünschten Vergleich zu ermöglichen. Als halbwegs geeignet möchte ich hier die Blumenblätter mancher Blüten, die sich zu Vitalfärbungen geeignet gezeigt haben, nennen (namentlich *Omphalodes linifolia*): an kleinen Stücken der Korollen bleiben in kräftigen Lösungen von Orange G lange Zeit die Epidermis- und Grundgewebszellen völlig farblos, während die in der Lösung stehenden Infloreszenzen schon vor Ablauf von 3 oder 4 Stunden an ihren Kronen die schönste Vitalfärbung erkennen lassen.

Welcher Art aber auch die Faktoren sein mögen, die in intakten Pflanzenorganen die schnelle und kräftige Färbung der den Leitbündeln anliegenden Parenchymzellen und selbst der ihnen relativ fern liegenden Epidermiszellen bewirken, jedenfalls werden wir annehmen dürfen, daß dieselben Faktoren auch bei der Überführung anderer nicht kolloidaler Stoffe, wie z. B. des Zuckers, aus den Gefäßen ins benachbarte Gewebe wirksam werden und die Stoff-

aufnahme seitens der lebenden Zellen unabhängig von Lipoidlöslichkeit und -unlöslichkeit ermöglichen können. —

Es kam mir bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit nur darauf an, nähere Angaben über die Permeabilitätsverhältnisse der Zellen intakter Pflanzenorgane insbesondere gegenüber sauren Farbstoffen zusammenzustellen und auf den Zusammenhang zwischen der Permeierfähigkeit und der Diffusibilität der Farbstoffe hinzuweisen, und ich bin daher auf die Erscheinungen, die mir an künstlich gefärbten Pflanzenorganen aufgefallen sind, im großen und ganzen nur dann eingegangen, wenn sie unmittelbar Beiträge zum Thema lieferten. Ich möchte zum Schluß nur ganz kurz darauf aufmerksam machen, daß mit Hilfe der hier beschriebenen Vitalfärbemethode noch mancherlei andere Fragen sich in Angriff werden nehmen lassen, vor allem solche, welche sich auf die Stoffwanderung beziehen und auf die Beteiligung der Gefäßbündelendigungen an dieser. Daß unter Umständen die Intensität der vitalen Färbung und ihre Verbreitung im Gewebe zum Indikator der Energie werden kann, mit welcher die Transpiration der Pflanzenorgane sich betätigt, und ungleich stark transpirierende Teile eines Organs leicht zu unterscheiden gestattet, habe ich vorhin schon angedeutet. Pflanzen, welche längere Zeit in den Farbstofflösungen stehen, lassen an den in Entwicklung begriffenen Organen Wachstumsanomalien erkennen, die ebenfalls Beachtung verdienen dürften. Dem Anatomen wird die vitale Färbung der Pflanzen durch die in den Leitbündeln aufsteigende Farbstofflösung vielleicht ein neues Mittel zum Studium der Membranen und ihrer Färbbarkeitsverhältnisse an die Hand geben. Das Studium des feineren Baues der in den Blumenkronenblättern liegenden Leitbündelendigungen dürfte ebenfalls durch die Vitalfärbemethode gefördert werden können.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Es gelingt, viele Anilinfarben in die lebenden Zellen intakter Pflanzenorgane strömen zu lassen, wenn man die Lösungen der Farben in den Leitbündeln der Versuchspflanzen aufsteigen läßt.

2. Zahlreiche saure Farbstoffe, welche bisher als „nichtvital“ galten, erweisen sich bei der angegebenen Versuchsanstellung als vital aufnehmbar. Namentlich die den Leitbündeln unmittelbar anliegenden Parenchymzellen nehmen reichliche Mengen vieler Farbstoffe sehr schnell in sich auf.

3. Vitale Färbungen wurden an zahlreichen Objekten (Achsen, Blättern, Blüten und Früchten mono- und dikotyler Pflanzen) mit leicht diffusiblen sauren Farbstoffen erzielt; besonders kräftig färben z. B. Säurefuchsin, Coccinin, Orange G, Naphthalingrün V.

4. Mit kolloidalen sauren Farbstoffen wurden im allgemeinen keine Vitalfärbungen erzielt; eine Ausnahme machen der Biebricher Scharlach, der bei verschiedenen Objekten mäßig starke Vitalfärbungen lieferte, sowie Echtrot B.

5. Wollviolett S vermag vital in die Zellen von *Ruta graveolens* einzudringen; Chromgrün färbt die Zellen verschiedener Gewächse intra vitam. Mit den fluoreszierenden Pyroninfarbstoffen Eosin, Erythrosin und Echtsäurephloxin wurde an zahlreichen Pflanzen kräftige Vitalfärbung erzielt.

6. Säurefuchsin, Orange G, Naphthalingrün V, Coccinin u. a. werden in den Zellen, in welche sie eingedrungen sind, in unbekannter Weise gespeichert; der Zellsaft der gefärbten Zellen erscheint dunkelrot, dunkelgrün, bezw. kräftig gelb. Mehrtägige Versuche, den Farbstoff durch Auswaschen in stehendem oder fließendem Wasser zu beseitigen, führten niemals zu nennenswerter Entfärbung der lebenden Zellen.

7. Wollviolett S erscheint in den Zellen, in welche es nachweislich eingedrungen ist, an kleine Öltröpfchen gebunden. Indigkarmin ruft an den untersuchten Objekten niemals tiefblaue Färbungen hervor, sondern färbt entweder den Zellsaft zart blau oder fällt in den Zellen als feiner Niederschlag aus.

8. Overtons Lipoidtheorie ist nicht imstande, das Eindringen bezw. Nichteindringen der untersuchten Farbstoffe zu erklären.

9. Ruhlands Satz, daß zwischen Diffusibilität bezw. Kolloidität der Farbstoffe und ihrem Eindringen in lebende Pflanzenzellen keine nachweisbaren Beziehungen bestehen, steht mit dem Verhalten der untersuchten sauren Farbstoffe nicht in Einklang.

10. Transpiration befördert die vitale Farbstoffaufnahme in leicht erkennbarer Weise.

Kiel, Juli 1911.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik](#)

Jahr/Year: 1912

Band/Volume: [50](#)

Autor(en)/Author(s): Küster Ernst

Artikel/Article: [Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. 261-288](#)