

Aus der prinzipiellen mechanischen Gleichheit der Schnitterzeugung mit schrägem und mit querem Messer leitet sich nun geradezu automatisch die Möglichkeit der Bänderung mit dem Schrägmesser ab. Sie wird durch bloßes Zurechtschneiden des Blockes auf einen bestimmten Querschnitt verwirklicht. Dieser läßt sich aus Abb. 2 a unschwer ablesen: er muß die Form des Parallelogrammes AA'BB' erhalten, das heißt zwei Seiten müssen zur Messerschneide, die beiden anderen zur Schnittrichtung (zum Schlitten) parallel liegen. Daraus resultiert zwar eine größere Distanz der Schnitte (als bei Verwendung des Quermessers), die aber bis zu einem Schnittwinkel von etwa 45° in durchaus tragbaren Grenzen liegt und im übrigen durch geeignete Position des Blockes vermindert werden kann (Abb. 5 a), in weitgehendem Maße, wenn die Länge des Objektes die Breite wesentlich überwiegt (Abbildung 5 b).

Diese Methode mildert auch erheblich die groben Insulte der ROCKING-Mikrotome, unter denen es Modelle mit neigbarem Messer gibt (z. B. Modell „OmS“ der Firma REICHERT).

### Literatur

Berger R., Einführung in die technische Mechanik. Leipzig, 1943.

— Encyklopädie der mikroskopischen Technik, 3.

Heringa G. C., Die Herstellung mikroskopischer Dauerpräparate. In

PETERFIT., Methodik der wissenschaftlichen Biologie, 1, 1928.

Reichert, Prospekt „Om 5027 d“.

Romeis B., Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 14. Aufl., 1943.

## CRESYLECHTVIOLETT ALS VITALFARBSTOFF

Mit 5 Abbildungen

Von PROF. DR. K. HÖFLER und  
PROF. DR. A. STIEGLER, Wien

Von F. FEYRTER wurde kürzlich in dieser Zeitschrift über ein neues Verfahren der Einschlußfärbung von Gefrierschnitten menschlicher Gewebe in einem Weinsäure-Cresylechtviolett-Gemisch berichtet und dabei aufgezeigt, daß sich große Zellkomplexe des menschlichen Körpers bei diesem Färbungsverfahren metachromatisch differenzieren. Vor allem ist es die „Blaufärbung“, die den Mediziner interessiert, da sie in der pathologischen Histologie (beispielsweise der Schilddrüse) eine beachtenswerte Rolle spielt. Durch die noch unveröffentlichten Untersuchungen von C. CORONINI über die Zyanochromie der pathologisch veränderten menschlichen Schilddrüse wurden wir auf die Besonderheiten des Cresylechtviolett als Farbstoff aufmerksam gemacht und darauf hingeführt, sein Verhalten an botanischem Material zu untersuchen.

Das Cresylechtviolett gehört zu den basischen Oxazinfarbstoffen. Es ist bisher von botanischer Seite nur selten angewandt worden, während die

chemisch verwandten Oxazinfarbstoffe Brillanteresylblau (IRWIN 1922 bis 1927), Prune pure (KÜSTER 1933, SCHÖNLEBER 1936, DRAWERT 1938) und Nilblausulfat öfter verwendet worden sind. Die Bedeutung des Cresylechtviolett in der Medizin liegt, wie bemerkt, in seiner Fähigkeit zu metachromatischer Färbung. Die Erscheinungen der Metachromasie (EHRlich 1877, CZAJA 1934, LISON 1935, 1939, SPEK 1940) stehen seit mehr als 15 Jahren im Vordergrund des Interesses. Wir verwenden den Ausdruck im weiteren Sinn, fassen also darunter die cH-Metachromasie, die Konzentrations-, die Dispersitäts-, die auf chemischer Veränderung des Farbstoffs beruhende Metachromasie oder auch allgemein die Erscheinung, daß verschiedene Zell- und Gewebepartien sich mit einem einheitlichen Farbstoff verschiedenartig anfärben, wobei die Art der Festlegung, durch chemische Bindung, durch adsorptive Kräfte oder Lösungsspeicherung, eine Rolle spielen kann.

Schon unsere ersten Versuche zeigten, daß das Cresylechtviolett auch die Aufmerksamkeit des Botanikers voll verdient.

Wir brachten Flächenschnitte der Blattunterseite von *Orchis maculata* in Lösungen des Farbstoffs 1 : 5000 in destilliertem Wasser oder in Farblösungen, die mit  $n/150$  primärem Kaliumphosphat auf etwa  $p_H$  4,8 gepuffert waren. Die Färbedauer wurde verschieden gewählt. Nachher wurden die Schnitte in destilliertem Wasser bzw. in farblosem Puffer von  $n/150$   $p_H$  4,8 ausgewaschen und darin untersucht. Es zeigte sich, daß die Zellwände eine rosa Farbe angenommen hatten, die nach Farbton und Sättigung auffallend an die Farbe der Zykamenblüte erinnert. Im Gegensatz dazu zeigten die geschrumpften Protoplaste (Abb. 1)<sup>1)</sup>, die in manchen Zellkammern liegen, eine dunkelblauviolette Farbe<sup>2)</sup>, während gefärbte Zellsäfte in den gewöhnlichen Epidermiszellen nicht zu beobachten waren.

Um zu entscheiden, ob einer bzw. welcher der beiden Farbtöne als Adsorptionsfärbung anzusprechen ist, wurde nun eine Kalziumchloridlösung von 0,2 mol durch das Präparat durchgesaugt. Seit PFEFFERs (1886) grundlegender Untersuchung ist ja bekannt, und neuere Erfahrungen (DRAWERT 1937, BORRIS 1937, REHM 1938, PEKAREK 1938 u. a.) haben es oft bestätigt, daß durch Zusatz positiv geladener Salzkationen basische Farbstoffe, die an pflanzlichen Zellwänden adsorptiv festgelegt sind, aus

<sup>1)</sup> Herrn Dr. Hermann GERM sei für die Ausführung der Textabbildungen unser herzlicher Dank gesagt.

<sup>2)</sup> Der Vergleich unserer botanischen Präparate mit medizinischen aus Frau Prof. CORONINI's Laboratorium zeigte, daß bei beiden annähernd die gleichen Farbtöne auftreten und sich empfindungsmäßig weitgehend entsprechen. Wir haben vorläufig davon abgesehen, sie durch Farbmessung festzulegen, geschweige denn, sie spektrometrisch zu untersuchen, so wichtig dies für eine weitere physikalisch-chemische Analyse der beobachteten Erscheinungen sein könnte (SPEK 1940). Jedenfalls liegen die beiden zunächst beobachteten Farbtöne auf der Grundlinie des Farbdreieckes der IBK nach Din. 5033; der Ton der von uns als rosa bezeichneten Farbe gegen den Eckpunkt (X), dem roten Eichreiz entsprechend, der Ton der blauvioletten Farbe in der Nähe von (Z), dem des blauen Eichreizes entsprechend.

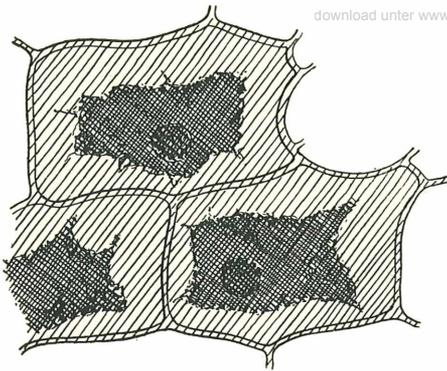


Abb. 1. *Orchis maculata*, Blatthautzellen mit Cresylechtviolett,  $p_H$  4,8, 1:5000 gefärbt. Zellwände rosa, tote geschrumpfte Protoplasten blauviolett.

ihrer Adsorptionsbindung verdrängt werden, wenn gewisse Bedingungen hinsichtlich der Ionenkonzentration und der Ionenladung (Wertigkeit) erfüllt sind. KERSTING (1937, S.334) hat z. B. gezeigt, daß die aus Zellulose bestehenden Zellwände der Spirogyra,

die mit dem basischen Farbstoff Toluidenblau tingiert sind, durch KCl und NaCl in 130—160 Sekunden, durch  $CaCl_2$  aber in 17 Sekunden entfärbt werden. Das Entfärbungstempo ist also für die zweiwertigen Ionen vielmals größer.

An den Orchisschnitten wurden nun durch  $CaCl_2$  die rosafarbenen Zellwände rapid entfärbt, wogegen die violettblauen Protoplastenleichen den Farbstoff festhielten. Sie tun dies auch, wenn die Schnitte in Schälchen der vollen Einwirkung der  $CaCl_2$ -Lösung für längere Zeit ausgesetzt worden sind. Die rosa Färbung mit Cresylechtviolett entspricht also bei unseren botanischen Objekt elektroadsorptiver Bindung, während bei den violettblauen toten Protoplasten der Farbstoff chemisch festgelegt ist. Gleiches Verhalten konnte an zahlreichen Zellobjekten immer wieder betätigt werden.

An den Schnittträgern ist die rosa Färbung meist wesentlich stärker als im Schnittinneren, auch wenn an dünnen Präparaten (Zwiebelhäutchen, Flächenschnitte von Orchis usw.) der Farbzutritt von innen her in der ganzen Fläche des Präparates gewährleistet ist. Diese Erscheinung, die übrigens jeder Vitalfärbler kennt und die als „Schnitttrandphänomen“ bezeichnet wurde, ist cH-abhängig und wurde an Zwiebelschnitten verfolgt (HÖFLER 1946). Die Entfärbungsversuche mit  $CaCl_2$  sind nun geeignet, einen wesentlichen Zug zur Klärung dieses Phänomens beizutragen. Während die rosa Zellwände von Orchis sich unter dem Einfluß von Ca-Kationen, wie erwähnt, rasch und völlig entfärben, bleibt am Schnitttrand eine rosa bzw. eine leicht bräunliche Färbung zurück. Daraus geht hervor, daß die verstärkte Schnitttrandfärbung nicht rein elektroadsorptiver Natur ist; sie besteht vielmehr aus zwei Komponenten, der rosa Adsorptionsfärbung und einer bräunlichroten kationenbeständigen Färbung, die vielleicht als Farblackbildung bezeichnet werden darf oder wenigstens den unter diesem Namen an toten pflanzlichen Zellmembranen beschriebenen Färbungen (BRAUNER 1933) in manchen Zügen entspricht.

Weiters wurden vergleichend Blattflächenschnitte der Orchidee *Platanthera bifolia* mit Cresylechtviolett gefärbt. Die Farbe kam bei schwach saurer Reaktion ( $p_H$  4,8) und schwach alkalischer ( $p_H$  um 8,2, Phosphatpufferung) zur Anwendung. Die letztere Lösung muß allerdings frisch vor Gebrauch hergestellt werden, da unser Farbstoff die unangenehme Eigen-

schaft hat, in alkalischer Lösung rasch auszufallen. Vor kurzem wurde das differente Verhalten von Orchis und Platanthera bei Fluorchromfärbung mit Akridinorange beschrieben (HÖFLER, Mikroskopie 2 [1947], 1/2: 20); die unterseitigen Blathautzellen von Orchis maculata haben „leere“, die von Platanthera „volle“ Zellsäfte; bei ersteren nehmen die Vakuolen mit dem genannten Fluorchrom eine rote, bei letzteren eine grell grüngelbe Fluoreszenzfärbung an. Mit unserem Hellfeldfarbstoff Cresylechtviolett färben sich nun die Epidermiszellen der Blattunterseite von Platanthera zu einem lebhaften „H i m m e l b l a u“, dessen Farbton psychologisch der einfachen, einheitlichen Elementarqualität entsprechen dürfte. (Eine solche Färbung ist am menschlich-histologischen Objekt bisher noch nicht beschrieben worden.) Plasmolyseversuche gaben klaren Aufschluß darüber, daß in diesem Falle wirklich die Zellsäfte der lebenden Protoplasten den Farbkörper in (diffus und homogen) gelöster Form führen. Wir haben dann weiterhin an sehr zahlreichen anderen Objekten solche blaue, echt vitale Vakuolenfärbungen erzielt. Die Nachbehandlung solcher Präparate mit  $\text{CaCl}_2$ , worin die rosa Zellwände entfärben, führte, wenn die Konzentration geeignet gewählt wurde, stets zur Plasmolyse der Protoplasten, wobei die Blaufärbung der Einengung und Konzentrationserhöhung entsprechend satter wurde, niemals aber eine Entfärbung der Zellsäfte eintritt. Gleiches ist für andere basische Farbstoffe, einer seinerzeitigen unrichtigen Angabe BÜNNINGs (1936) gegenüber, von CZAJA (1936), BORRIS (1937), KERSTING (1937) u. a. festgestellt worden.

Wir kennen damit nun drei verschiedenartige, physikalisch einigermaßen verständliche Effekte unseres metachromatischen Farbstoffs Cresylechtviolett, die zyklamenfarbige, rosa Adsorptionsfärbung (ein ungesättigtes Rot mit Blaustich), die tiefere, violettblaue Färbung toter Protoplastenteile, die auf chemischer Bindung — möglicherweise auf Festlegung an lipoiden Plasmaphasen im Sinne FEYRTERs — beruht, und die reinblaue Färbung der Zellsäfte in lebenden Protoplasten. — Hinzuzufügen ist, daß verholzte, ligninhaltige Zellwände eine starke, violette, naturgemäß ionenbeständige Färbung annehmen.

Im botanischen Schrifttum finden sich über die Wirkung unseres Farbstoffs nur vereinzelte Angaben. So erwähnt CZAJA (1934, S. 540, 546) seine verschiedenartige Färbewirkung auf Zellulose-, Lignin- und Kutinwände. DRAWERT, der die Wirkung von 40 basischen Farbstoffen systematisch und vergleichend untersucht hat, macht für das Cresylechtviolett folgende Angaben (1940, S. 166): Farbton:  $\text{pH}$  2–9 violett;  $\text{pH}$  9–11,5 blaßorange. Bei  $\text{pH}$  11,5 fällt der Farbstoff bald aus. Wanderung:  $\text{pH}$  2–7 zur Kathode;  $\text{pH}$  7–11,5 keine eindeutige Wanderung mehr. Löslichkeit: Toluol:  $\text{pH}$  2–5 gar nicht,  $\text{pH}$  7 im Verhältnis 1 : 1,  $\text{pH}$  8,5 der größere Teil,  $\text{pH}$  10–11,5 quantitativ mit gelbem Farbton löslich. Chloroform:  $\text{pH}$  2–5 gar nicht,  $\text{pH}$  7 der größere Teil,  $\text{pH}$  8–11,5 fast quantitativ mit gelbem Farbton löslich. Toluol + Ölsäure:  $\text{pH}$  2 gar nicht,  $\text{pH}$  3–5 der größere Teil,  $\text{pH}$  7–11,5 quantitativ mit blauvioletterm Farbton löslich. Vitalfärbung: Obere und untere Epidermis von Allium cepa.  $\text{pH}$  2 farblos;  $\text{pH}$  3–7 reine Membranfärbung;  $\text{pH}$  8 schwache Membran-, gute Vakuolenfärbung;  $\text{pH}$  9–11,5 reine Vakuolenfärbung. Sempervivum holochrysum (gerbstoffhaltige Zellen)  $\text{pH}$  2

tot, Gerbstoffhorizont und Nebenzellen diffuse Inhaltsfärbung.  $p_H$  3—7 nicht gefärbt;  $p_H$  7,5—11,5 G.H. und N.Z. Vakuolenfärbung zum Teil diffus, zum Teil in Krümelform.

Zum chemischen Verhalten sei ergänzend nur bemerkt, daß der von uns verwendete Farbstoff sich in Wasser mit violetter, in Alkohol und Glycerin mit rein blauer Durchsichtsfarbe löst, während in der Aufsicht eine lebhaft purpur- bzw. kupferrote Fluoreszenz in Erscheinung tritt. Die Violett färbung entspricht also einem ionisierten, die blaue einem undissoziierten molekularen Zustand. Mit Benzol läßt sich unser Farbstoff aus alkalischer Lösung mit leicht rötlichgelber Farbe ausschütten.

DRAWERT hat Cresylechtviolett von MERCK verwendet. Wir arbeiteten mit dem von FEYRTER und CORONINI verwendeten Farbstoff „besonders stark metachromatisch. Stand. Farbstoff „Bayer“, J. K. Hollborn und Söhne, Leipzig. Katalog Nr. 148“.

Was nun das Verhalten bei Vitalfärbung betrifft, so ist beim Cresylechtviolett die Schwelle der Membranfärbung unter  $p_H$  3 zweifellos wie bei anderen basischen Farbstoffen durch die Lage des IEP (isoelektrischen Punktes, besser Entladungspunktes) der Zellulosemembranen bestimmt. Wir haben gleichwohl zur Prüfung des Verhaltens noch an einigen Objekten Färbeversuche mit abgestuften  $p_H$ -Reihen in der seit STRUGGER (1936) üblichen Weise angestellt. Die Farbreihe umfaßte folgende Stufen:  $p_H$  um 8,75, 8,0/8,2, 7,1, 6,35, 4,8, 3,1, 2,56, 2,12, 2,04. Es zeigte sich mehrfach (nicht überall), daß die rosa Membranfärbung der Zellulose, wie zu erwarten, aus dem alkalischen Bereich bis auf  $p_H$  3 herunterreicht. Zwar ist bei makroskopischer Betrachtung der Präparate die Farbgränze oft verwischt und auch bei stärker saurer Reaktion eine schwache Rosafärbung noch sichtbar. So in Reihenversuchen mit Zwiebelhäutchen von der innerseitigen Epidermis der Schuppen von *Allium cepa*, die nach der Entlüftung drei Tage in destilliertem Wasser gelegen und darin abgestorben und leicht verquollen waren. Die Untersuchung bei stärkerer Vergrößerung zeigte aber, daß bei  $p_H$  2,56 und 2,12 nur die jetzt deutlich unterscheidbaren pektinhaltigen Mittellamellen der Membranen rosa gefärbt, die aus reiner Zellulose aufgebauten beiderseitigen Verdickungsschichten aber ungefärbt geblieben waren. Erwähnt sei, daß in den abgestorbenen Schnitten sich die toten Zellkerne bis auf  $p_H$  4,8 herab lebhaft violett gefärbt hatten, während bei stärker saurer Reaktion, also nach Unterschreiten ihres IEP, die Färbung fehlte. und weiter bei  $p_H$  2,1 auffälligerweise eine leicht trübblaue Färbung entmischter Chromatinkügelchen im Kerninneren zu sehen waren. Bei Wiederholung des Reihenversuches mit Häutchen von kurz zuvor entlüfteten Zwiebel-schuppen hatten sich die frisch abgestorbenen Zellkerne bei  $p_H$  2,56, 2,12 und 2,04 kräftig blau gefärbt. Elektroadsorptiver Natur kann diese Färbung unter dem IEP der Kerne schwerlich sein.

Wir haben die Färbe- und auch die Reihenversuche auf weitere botanische Objekte ausgedehnt und wollen einige von unseren Beobachtungen schon hier mitteilen.

Die blaue, vitale Vakuolenfärbung findet sich an Pflanzenzellen in weiter

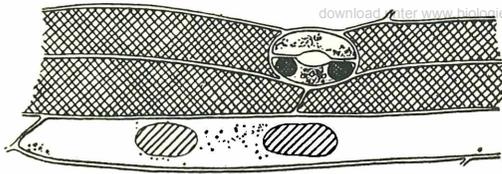


Abb. 2. *Allium sativum* mit Cresylechtviolett,  $p_H$  8,2, gefärbt. Lebende Epidermiszellen zeigen blaue Vakuolenfärbung. Tonoplasten-Zellsäfte sind rotlila.

Verbreitung. Es scheinen die „vollen“, d. h. die mit Akridinorange zu gelbgrüner Fluoreszenz erregbaren Zellsäfte zu sein, die mit Cresylechtviolett die typische blaue Vitalfärbung annehmen. Am schönsten erhält man diese bei schwach alkalischer Reaktion; aber auch bei neutraler und mäßig saurer ( $p_H$  6,3, 4,8) wurde sie mehrfach nachgewiesen. So in Stengel- und Blattflächenschnitten von *Atriplex patulum* und *Ballota nigra*, *Achillea collina*, *Crepis rheadifolia*, *Medicago sativa* und *Trifolium montanum*. Die Objekte zeigten im Parallelversuch mit Toluidinblau, soweit geprüft, die bekannte eisblaue Vakuolenfärbung (CZAJA 1936 u. a.). — Aber nicht jede Zellsafttinktion führt zur Blaufärbung. Darin verhält sich das Cresylechtviolett spezifisch und abweichend von anderen Basenfarbstoffen. Oft sind die Vakuolen, die dem Wundrand der Schnitte naheliegen, mehr lila gefärbt. Bei *Platanthera*, einem aufschlußreichen Zellobjekt, zeigen alle lebenden Zellen der Schnitte eine himmelblaue, die wundnahen Randzellen aber eine lilablau und einzelne Vorpostenzellen im toten Außenteil der Schnitte eine reinlila Vakuolenfärbung. Auf die vermutlichen Ursachen und den Vergleich mit der Akridinorange-Hellfeldfärbung dieser Zellen einzugehen, würde zu weit führen.

Leichter mag eine kausale Deutung der verschiedenartigen Zellsaftfärbung bei einem anderen Objekt zu erreichen sein, nämlich beim Blattflächenschnitt von Knoblauch, *Allium sativum*. Die Schnitte wurden mit Cresylechtviolett bei  $p_H$  8,2 25 Minuten behandelt. Sie boten dann, im farblosen Puffer  $p_H$  8,2 untersucht, ein buntes Bild. In dünnen Schnittteilen lagen die lebenden himmelblauen Epidermiszellen scheckig zwischen toten, an denen nur die Zellwände rosa angefärbt waren. Die Zellsäfte lebender Schließzellen sind reinblau und zeigen oft die von WEBER (1930) beschriebene Vakuolenkontraktion und -teilung. Am Längsrand der Schnitte aber waren in einzelnen nekrotischen Zellen einige „Tonoplasten“-Blasen (Abb. 2) erhalten, die noch Zellsaft, von der Vakuolenwandung umschlossen, enthielten. Dieser war hier diffus und homogen rotlila angefärbt. Der Blaufärbung der Zellsäfte intakter Protoplasten steht also eine Rotlilafärbung der isolierten, überdauernden Vakuolenblasen nekrotischer Randzellen gegenüber. Die Behandlung mit Cresylechtviolett führt hier somit zu einer hübschen Differentialfärbung der Tonoplastenzellsäfte.

Bei Flächenschnitten des Stengels der um Wien gemeinen Labiate *Ballota nigra*, einem vordem in der Zellphysiologie noch nicht verwendeten Objekt, ergibt unser Farbstoff in alkalischer Lösung ein besonders buntes, farbenprächtiges Bild: Reinblaue Zellen, mehr und weniger gesättigt, lilafarbige und purpurrote Zellen erscheinen buntscheckig untermischt. Die lebenden

Epidermiszellen haben zum Großteil himmelblaue Zellsäfte. Die Zellwände toter Zellen zeigen die bekannte zyklamenrosa Adsorptionsfärbung, die hier an den Schnitträndern kaum verstärkt erscheint. Die Schließzellen sind blau gefärbt und heben sich vielfach durch ihre eisblaue Zellsaftfärbung, d. h. durch einen Grünstich von den reinblauen gewöhnlichen Epidermiszellen ab. Die die Stomata umgebenden Nebenzellen sind hingegen purpurrot gefärbt, und hier sind es die Zellsäfte, welche vital diesen uns hier erstmals begegnenden Farbton annehmen<sup>1</sup>). Plasmolysiert man die Schnittpräparate, so erweist sich die Vitalität der blauen und der purpurroten Zellen. Bei Plasmolyse mit ionisierten Salzlösungen entfärben sich die rosa Membranen, während die Zellsaftfärbung naturgemäß unberührt bleibt. Zur Plasmolyse verwendete Nichtelektrolyte (Zucker) vermögen, wie bekannt, auch die Membranfärbung nicht zu beeinflussen.

Kaum abzusehen ist die Mannigfaltigkeit der Färbefeffekte, welche durch basische Farbstoffe an Pflanzenhaaren hervorgerufen werden. Die Stengelepidermis von *Ballota* führt zweierlei Trichome; einreihige, mehrzellige Haare aus gestreckten Zellen mit rauher, zart längshöckeriger Oberfläche und fast sitzende, vierzellige Drüsen. Die untersten Zellen der Haare sind am Grunde sockelartig erweitert und leicht in die Epidermis eingesenkt. Wir färbten die Schnitte in  $p_H$ -gestuften Lösungsreihen. Man kann die Färbedauer, wenn sichs um das Studium von Zellmembranen handelt, auch länger wählen. Nach dreißig Minuten wählender Einwirkung der Cresylechtviolett-Lösungen 1 5000 und Übertragung der Schnitte in die entsprechenden Puffer waren die Haare prächtig differenziert. Ihre Basalzellen waren in alkalischer und schwach bis mäßig saurer Lösung violett gefärbt, während die oberen Zellen völlig farblos geblieben waren (Abb. 3). Die Haare treten aus der farblosen oder leicht rosafarbigem Epidermis der Umgebung im Bilde stark hervor. Im Inneren größerer Flächenschnitte sind, in der Aufsicht betrachtet, oft nur Ringzonen mit beiderseits scharfer Abgrenzung gefärbt (Abb. 4). Oft fällt die Gleichmäßigkeit dieses Bildes bei allen Haaren eines Präparates auf. Wir konnten den Versuch bei  $p_H$  6,35 am besten reproduzieren. Beobachtet man das zeitliche Zustandekommen der Färbung, so ergibt sich, daß sie am Sockel der Basalzelle beginnt, während die angrenzende Epidermis farblos ist, und daß sodann die Färbung im Haar nach oben fortschreitet und endlich die gesamte Membran der Basalzelle gleichmäßig erfüllt, ohne zunächst auf die obere Nachbarzelle des Haares überzugreifen. Bemerkenswert ist aber der Ausfall des Versuches am sauren Ende der Lösungsreihe. Bei  $p_H$  2,12 und 2,04 ist die Basalzelle gleichfalls färberisch stark differenziert. Ihre Membran ist hier aber blau gefärbt, nicht violett. Die ganze übrige Membran ist farblos (oder, wiewohl der IEP der

---

<sup>1</sup> N. HAMORAK (1915), ein Schüler MOLISCHs, hat einen solchen spezifischen, von der übrigen Epidermis abweichenden Chemismus der Nebenzellen (im Gerbstoffgehalt u. a.) zuerst nachgewiesen; vgl. PEKAREK (1933). Solche chemische Unterschiede liegen sicherlich auch der hier beschriebenen Differentialfärbung zugrunde.

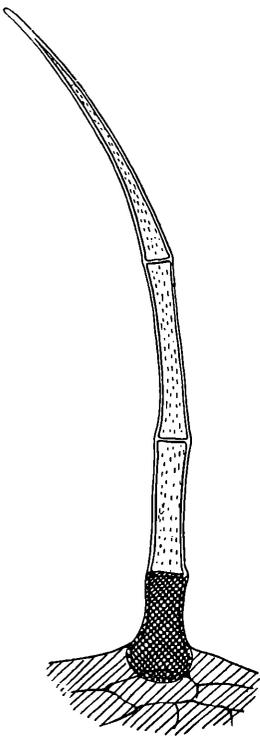


Abb. 3

Abb. 3. *Ballota nigra*,  $\rho_H$  2,12. Basalzelle des Haares blau, übriges Haar farblos, Epidermiszellwände rosa.

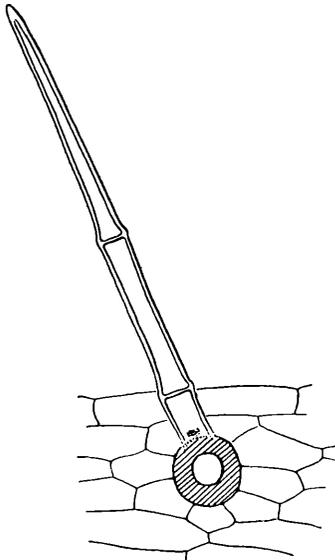


Abb. 4

Abb. 4. *Ballota nigra*,  $\rho_H$  6,35. Haar in der Aufsicht. Nur eine basale Ringzone erscheint violett gefärbt.

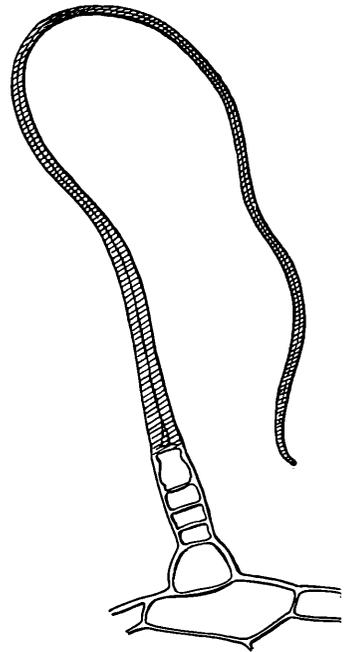


Abb. 5

Abb. 5. *Achillea collina*, Stengelhaar. Geißelförmige Endzelle violett.

Zellulose unterschritten ist, zyklamenrosa). Das Verhalten wurde in fünf Reihenversuchen bestätigt. Es ist neuartig, findet wohl keine Parallele in Erfahrungen mit anderen Farbstoffen und verdient weitere Verfolgung.

Von anderen an Pflanzenhaaren erzielten Färbbildern seien nur wenige Beispiele erwähnt. Das gelbe Labkraut, *Galium verum*, hat kurze, einzellige, aufrechte, gekrümmte Haare. Sie färben sich tief lila, verbleichen aber wie die Epidermis bei  $\text{CaCl}_2$ -Einwirkung rasch über Rotviolett bis zur Farblosigkeit; sie verhalten sich also wie einfache Zelluloseobjekte. Die Schafgarbe, *Achillea collina* (Material aus Mödling bei Wien) führt eigenartige Trichome, bei denen über einer Reihe kurzer lebender Zellen eine lange, geißelförmige, tote Zelle mit verdickter Membran und spaltenförmigem Lumen steht (Abb. 5). Nur diese letztere färbt sich dunkelviolett und diese Färbung erschien ionenresistenter, d. h. sie hielt beim Auswaschen mit  $\text{CaCl}_2$  zunächst aus. Ebenso verhielten sich die Haargeißelzellen übrigens im Parallelversuch mit kräftig färbender Toluidinblaulösung; hier wurde die

Geißelzelle tief dunkelblau, die tote Epidermiszellwandung dagegen violett, in  $\text{CaCl}_2$  blich letztere aus, erstere blieb blau. Die Wände der unteren, lebenden Haarzellen hatten beide Farbstoffe nicht oder kaum angenommen.

Das Cresylechtviolett erzeugt also auch eine violette Membranfärbung, die schwer auswaschbar ist und wohl nicht bloß auf Ionenadsorption beruht. Der Korbblütler *Crepis rhoeadifolia* hat am Stengel zweierlei Trichome: Mehrreihige, lebende Haare, die im Versuch farblos bleiben und einzellige, tote Bandhaare, die sich dunkelviolett färben und wiederum, in  $\text{CaCl}_2$  übertragen, lila bleiben. Die Haare, die an den Deckspelzen der Ährchen des Grases *Melica ciliata* stehen, färbten sich in derselben Versuchsreihe überraschenderweise rein ultramarinblau. Auch diese Färbung blieb beim Auswaschen in  $\text{CaCl}_2$ -Lösung erhalten. *Crepis*- und *Melica*haare, die im selben Versuch nebeneinander gefärbt und nachher in der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung ausgewaschen und darin mikroskopisch untersucht wurden, zeigten den schönsten Farbkontrast. Die Haare von *Crepis* waren rotviolett, die von *Melica* ultramarinblau geblieben. Das Cresylechtviolett erzeugt also an Pflanzenmembranen — außer der gewöhnlichen, zyklamenrosa, auf Kationenadsorption beruhenden Färbung — noch mindestens zweierlei im Ton stark verschiedene Zellwandfärbungen, die der Einwirkung von Ca-Ionen widerstehen und daher wohl nicht durch bloße adsorptive Anlagerung von Farbkationen, sondern vielleicht durch chemische Bindung der Farbe mit Membrankomponenten verursacht sind.

### Literatur

- Borris H.*, Protoplasma **28** (1937): 23.  
*Brauner L.*, Flora **127** (1933): 190.  
*Bünning E.*, Flora **131** (1936): 87.  
*Czaja A. Th.*, Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengeweben. II. Basische Farbstoffe. *Planta* **21** (1934): 531.  
 — *Planta* **26** (1936): 90.  
*Drawert H.*, Flora **132** (1937): 91.  
 — *Planta* **29** (1938): 179.  
 — *Flora* **134** (1940): 159.  
*Ehrlich P.*, Arch. mikr. Anat. **13** (1877).  
*Feyrter F.*, Mikroskopie **1** (1946): 49.  
*Hamorak M.*, Beiträge zur Mikrochemie des Spaltöffnungsapparates. Sitzber. kais. Ak. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. Abt. I, **124** (1915): 447.  
*Höfler K.*, Sitzanz. Ak. Wiss. Wien **7** (6. April 1946).  
 — Mikroskopie **2** (1947): 13.  
*Irwin M.*, Journ. gen. phys. **5** (1922): 223, 727.  
 — ebd. **8** (1925): 147.  
*Irwin M.*, ebd. **10** (1927): 425.  
*Kersting F.*, Ber. dtsch. bot. Ges. **55** (1937): 329.  
*Küster E.*, Z. wiss. Mikrosk. **50** (1933): 409.  
*Lison L.*, Protoplasma **24** (1935): 452.  
 — et *Fautrez J.*, Protoplasma **33** (1939): 116.  
*Molisch H.*, Mikrochemie der Pflanze. 3. Aufl. G. Fischer, Jena, 1923.  
*Pekarek J.*, *Planta* **21** (1933): 419.  
 — Protoplasma **30** (1938): 161.  
*Pfeffer W.*, Unters. Bot. Inst. Tübingen **2** (1886): 179—329.  
*Rehm S.*, *Planta* **28** (1938): 359.  
*Reichert*, Fluoreszenzmikroskopie mit Fluorochromen. Rezepte und Tabellen. Reichert, Wien, 1944.  
*Spek J.*, Protoplasma **34** (1940): 533.  
*Schönleber H.*, Z. wiss. Mikrosk. **53** (1936): 303.  
*Strugger S.*, Protoplasma **26** (1936): 56.  
*Weber F.*, Protoplasma **9** (1930): 128.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1947

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Höfler Karl, Stiegler Adolf

Artikel/Article: [Cresylechtviolett als Vitalfarbstoff. 250-258](#)