

EINIGE BEOBACHTUNGEN ÜBER DIE AUFNAHME VON
FARBSTOFFEN DURCH DIE BLÄTTER VON
HELODEA DENSA UND HELODEA CANADENSIS

von

JOHANNA M. DIEHL (Delft).

In seiner sehr reizvollen Arbeit „Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze“, Berlin 1935, beschreibt S. Strugger als „Versuch 44“ ein Experiment, mit welchem man die „Dauerzone“ der sich noch entwickelnden Blätter von *Helodea densa* von dem wachsenden Teil jener Blätter unterscheiden kann. In diesem Versuch legte Strugger die Blätter während 4 bis 5 Std. in eine Lösung von Neutralrot 1 : 1000. Es ergab sich, dass der erwachsene Teil des Blattes gefärbt wurde, während das jüngere Gewebe ungefärbt blieb. Bei sehr jungen Blättern wurde nichts oder nur die Spitze des Blättchens gefärbt, bei älteren war der gefärbte Teil grösser und bei erwachsenen Blättern blieb nurmehr ein schmaler basaler Streifen ungefärbt.

Strugger spricht bei der Beschreibung des Experimentes ausschliesslich von „Farbstoffspeicherung“, und er wird auch wohl nur eine Farbstoffaufnahme durch die Zellflüssigkeit des gefärbten Blatteiles beobachtet haben. Dies ergibt sich auch aus der Erklärung seiner Ergebnisse, worin er die beobachtete Farbstoffaufnahme einer „Vitalfärbung“ der älteren Zellen zuschreibt und sich vorstellt, dass die Protoplasten der Zellen, welche sich noch in „Streckung“ befinden, „normalerweise“ nicht für den Farbstoff permeabel sind. Das Auftreten von gefärbten Zellen in der Nähe einer Stichwunde in einem normalerweise nicht färbbaren Teil eines Blattes und eine gleichartige Wirkung bei Erwärmen schreibt Strugger — in Übereinstimmung mit seiner oben erwähnten Erklärung — einer erhöhten Permeabilität nach der Behandlung zu. Auch sieht er eine Bestätigung dieser Auffassung beim Plasmolysieren mit einer Lösung von 1 mol Ureum in der verschiedenen Form der Plasmolyse (konvex oder konkav) in alten und jugendlichen Blatteilen.

Auf S. 171 seiner Arbeit gibt Strugger noch einen „Nach-

trag zu Versuch 44", in welchem er die Erklärung erwähnt, die M. Lilienstern (Protoplasma 23, 86, 1935) von dem oben genannten Experiment gibt. Lilienstern hat nachgewiesen, dass aus den jugendlichen Blatteilen ein Bestandteil diffundiert, welcher Methylenblau reduziert, während dies aus den älteren Blatteilen nicht geschieht. Er meint hieraus folgern zu können, dass der Unterschied in der Färbefähigkeit von jungen und alten Blatteilen nur ein scheinbarer ist und dass dieser verursacht wird durch Reduktion des aufgenommenen Farbstoffes in den jugendlichen Zellen. Strugger kündigt nun eine nähere Mitteilung an, in welcher er nachweisen will, dass seine Erklärung — soweit sie sich auf die Annahme einer „Permeabilitätsverschiedenheit“ stützt — nicht durch den Liliensternschen Versuch zunichte gemacht wird.

Als ich im Dezember 1935 den Struggerschen Versuch mit *Helodea densa* und mit *Helodea canadensis* anstellte, erhielt ich für beide Arten — bei makroskopischer Betrachtung — eine vollständige Bestätigung seiner Angaben. Beblätterte Knospen dieser Arten ergaben nach einer Behandlung mit Neutralrot eine vollständige Serie von Blättchen mit verschieden breiten farblosen und gefärbten Zonen, zeigten also die gleichen Bilder, wie sie in den Figuren 47, 48 und 49 der Struggerschen Arbeit wiedergegeben sind.

Bei mikroskopischer Betrachtung der intakten Blättchen konnte ich jedoch keinen Farbstoff in den Zellen, also keine „Vitalfärbung“ wahrnehmen und es schien mir, als müsste man in diesem Fall die Farbunterschiede zwischen den beiden Blattzonen ausschliesslich einem Unterschied in der Färbung der Zellwände zuschreiben. Die Wände der älteren Zellen waren nämlich durch das Neutralrot deutlich gefärbt; die der jungen Zellen waren farblos geblieben.

Als ich im Februar dieses Jahres den Versuch wiederholte, erhielt ich jedoch das gleiche Resultat wie Strugger, nämlich „Vitalfärbung“ des Inhaltes der älteren Zellen aber nur dann, wenn ich die Blättchen kurz (ungefähr 10 Minuten) in der Farbstofflösung behielt. Bei einer längeren Einwirkung der Farbstofflösung (4—5 Stunden) färbten sich in den älteren Teilen des Blattes auch die Zellwände und ich erhielt dann ausser der „Vitalfärbung“ auch die Zellwandfärbung, wie ich sie im Dezember 1935 schon beobachtet hatte.

Da sich auch hierbei *H. densa* und *H. canadensis* vollkommen gleich verhielten, habe ich bei meinen weiteren Versuchen gemeint ausschliesslich mit *H. canadensis* arbeiten zu dürfen, von welcher Art mir mehr Material zur Verfügung stand.

Ich bleichte junge beblätterte Knospen von *H. canadensis* mit „Eau de Javelle“, wusch sie mit verdünnter Essigsäure und danach mit Wasser sorgfältig aus und färbte sie schliesslich nach Str u g g e r. Mit diesem naturgemäss abgestorbenen Material erhielt ich bei makroskopischer Betrachtung ein vollkommen gleiches Ergebnis, wie mit den lebenden beblätterten Knospen. Hierdurch glaube ich einen genügenden Beweis dafür erbracht zu haben, dass das Experiment von Str u g g e r nicht ohne weiteres zur Demonstration einer Permeabilitätsverschiedenheit des Protoplasmas von jugendlichen und älteren Zellen angeführt werden darf. Auch glaube ich hierdurch die Liliens ternsche Erklärung dieser Erscheinung — wenigstens für die makroskopische Beobachtung — widerlegt zu haben.

Ich legte mir nun die Frage vor, worin der Unterschied in der Aufnahmefähigkeit des Farbstoffes durch die Wände der jüngeren und der älteren Blatteile besteht.

Es zeigte sich, dass eine Chlorzinkjodlösung die Wände beider Blattzonen blau färbt, während mit Ruthenrot ein gleicher Unterschied beobachtet wurde wie mit Neutralrot, d.h. mit Ruthenrot wurden nur die Wände der älteren, nach der Spitze zu gelegenen Blatteile rot gefärbt. Obschon diese Beobachtungen darauf hindeuten könnten, dass die Wände der älteren Blatteile reicher an Pektinstoffen sind als die der jugendlichen Teile, so muss doch sofort an der Richtigkeit dieses Schlusses gezweifelt werden. Es ist nämlich eine bekannte Tatsache, dass im Allgemeinen der Gehalt an Pektinstoffen bei dem Altern der Zellwände abnimmt. Tatsächlich zeigte auch das Ergebnis eines Mazerationsversuches nach J. K i s s e r (Planta 2, 489, 1926), — d.i. die Behandlung mit einer 3%-igen Lösung von Wasserstoffperoxyd während einer Nacht bei 45° C. — durchaus nicht in diese Richtung. Bei der Mazeration fielen nämlich die jungen Blatteile leichter in Zellen auseinander als die älteren, welches Resultat auf einen höheren Gehalt an Pektinstoffen in der Mittellamelle der jugendlichen Blattgewebe zeigt.

Wurde die Färbung mit Ruthenrot lange Zeit fortgesetzt (ungefähr 7 Std.), so färbten sich auch die Zellwände der jungen Blatteile. Auch diese Tatsache zeigte daraufhin, dass der beobachtete Unterschied nicht einem niedrigeren Pektingehalt bei den jugendlichen Blatteilen zuzuschreiben war und es wurde ausserdem wahrscheinlich, dass die Ursache der Erscheinung in der verschiedenen Durchdringbarkeit des Farbstoffes gesucht werden muss. Zwar hat Str u g g e r diese Erklärung verworfen, weil beinahe alle Plasmolytika in kurzer Zeit in das intakte Gewebe

eindringen, er hatte aber dabei nicht bedacht, dass kolloidale Farbstofflösungen sich anders verhalten können als plasmolysierende, aufgelöste Stoffe.

Wir nehmen an, dass die Verschiedenheit in der Färbefähigkeit der jüngeren und älteren Blatteile einer auf den jüngeren Blättern gelegenen Kutikula zuzuschreiben ist, die bei den älteren abgeworfen wird. Zwar konnten wir das Vorkommen einer solchen Kutikula direkt nicht beobachten — auch nicht durch Anwendung von Färbemethoden — indirekt aber konnten wir das Vorkommen einer Kutikula an der äusseren Oberfläche der jungen Blatteile nachweisen.

Zu diesem Zwecke suchten wir Blättchen von *H. canadensis* in einem Alter aus, wo bei der Färbung nach Strugger ungefähr die obere Blatthälfte gefärbt werden würde und die untere farblos blieb.

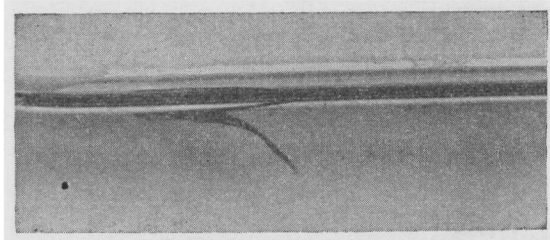


Fig. 1.

Trocknet man ein solches Blättchen oberflächlich mit Filterpapier ab und legt es dann vorsichtig auf eine Wasseroberfläche, so treibt es darauf, weil sich der untere Teil des Blättchens nicht anfeuchtet, sodass sich längs des Randes dieses Blatteiles ein Meniskus unter der Wasseroberfläche bildet, welcher das Blättchen aufzuheben versucht. Rund um den Rand der oberen Hälfte des Blättchens wird ein solcher Meniskus jedoch nicht gebildet, sodass die Spitze des Blättchens unter Wasser getaucht wird (s. Fig. 1).

Taucht man Blättchen von verschiedenem Alter mit einer Pinzette in Wasser, so bildet sich längs der Blattoberfläche ein Meniskus, welcher eine verschiedene Form für das alte und für das junge Blatt zeigt. Während nämlich das Wasser am Rande für das ältere Blatt hoch steigt (s. Fig. 2), bildet es längs des jüngeren Blättchens einen nach unten gebogenen Rand (s. Fig. 3). Zur Erläuterung unserer letzten Figur bemerken wir, dass wir das

Blättchen mit einer Schreibfeder beschwerten, um es genügend untergetaucht zu halten.

Unsere Auffassung dieser Erscheinung erklärt zudem die starke Färbung der Zellwände in der Nähe von Wunden bei den jugendlichen Blatteilen, welche übrigens aus Lösungen von Neutralrot und Ruthenrot keinen Farbstoff aufnehmen; sie erklärt ausserdem die Tatsache, dass die Zellwände in Querschnitten jugendlicher und alter Blätter gleich schnell und intensiv durch Neutralrot und auch durch Ruthenrot gefärbt werden. Für diese Färbungen von Zellwänden in der Nähe von Wunden oder auf Querschnitten kann naturgemäss eine Veränderung in der Permea-

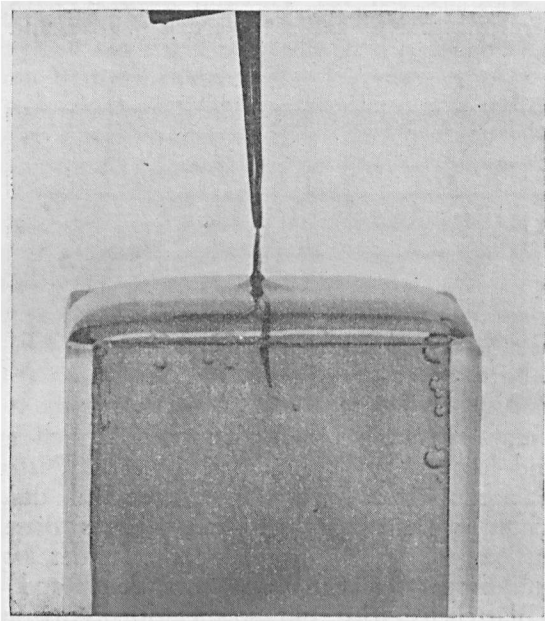


Fig. 2.

bilität der Protoplasten nicht verantwortlich gemacht werden.

Endlich ist mit unserer Erklärung auch die von uns beobachtete Tatsache in Übereinstimmung, dass nach einer sechsstündigen Behandlung von Blättchen von *H. canadensis* mit 5%-iger alkoholischer Natronlauge, Auswaschen mit Essigsäure und mit Wasser, und Behandeln mit Neutralrotlösung eine Färbung der

ganzen Blattoberfläche erzielt wird, auch für Blättchen, welche ohne diese Behandlung eine gefärbte und eine farblose Zone gezeigt hätten. Auf Grund der Tatsachen, welche man über das Verhalten der Kutikula bei anderen Pflanzen weiss, darf man annehmen, dass die Kutikula bei der oben beschriebenen Behandlung auch von den jugendlichen Teilen des Blattes entfernt worden ist.

Wir wollen hier ferner an die bekannte Beobachtung von G. Klebs über den Unterschied in der Färbbarkeit von Zell-

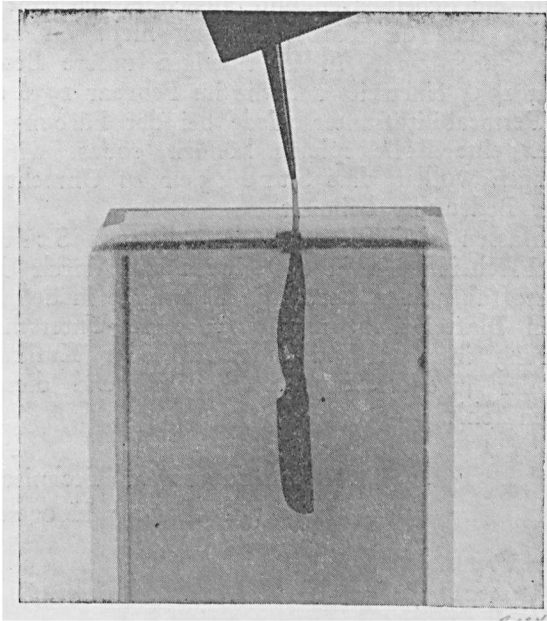


Fig. 3.

wänden lebender und toter Prothallien von Farnen erinnern und verweisen in diesem Zusammenhang auf die Publikationen von A. Dorner (Über das Verhalten der Zellwand zu Kongorot, insbesondere bei Farnprothallien (Zentr. Bl. f. Bakt. 2. Abt. 56, 14—27, 1922) und L. Brauner (Zur Frage der postmortalen Farbstoffaufnahme von Pflanzenzellen, Flora 127, 190—240, 1933), aus denen sich ergibt, dass in manchen Fällen die An- oder Abwesenheit der Kutikula für die Farbstoffaufnahme durch die Zell-

wände von entscheidender Bedeutung ist. Wir weisen auch auf die Mitteilung von D o r n e r hin, der fand, dass *Helodea*-Sprosse kein Kongorot aufnehmen und dass mittels der Sudanrotreaktion bei dieser Pflanze die Anwesenheit einer Kutikula festzustellen war.

Wir haben uns nun die Frage vorgelegt, welche die Ursache der „Vitalfärbung“ der Zellen bei den älteren Blatteilen sein kann, welche S t r u g g e r immer beobachtete und die wir nur bei kurz andauernder Färbung im Februar 1936 feststellen konnten.

Nach dem, was wir über die Impermeabilität der Kutikula fanden, halten wir es für sehr wahrscheinlich, dass dieser Unterschied nur ein scheinbarer und ausschliesslich eine Folge des Umstandes ist, dass die Farbstofflösung nicht bis zu den jüngeren Zellen durchdringt. Indessen zeigen unsere Beobachtungen im Dezember 1935 einerseits und die im Februar 1936 andererseits doch, dass Permeabilitätsunterschiede bei der Färbung der Zellen von *Helodea* eine Rolle spielen können, sodass wir nicht mit Sicherheit sagen wollen, dass S t r u g g e r zu Unrecht der Vitalfärbung eine Bedeutung beimisst.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die von S t r u g g e r beschriebenen Erscheinungen in der Hauptsache durch Unterschiede in der Farbstoffaufnahme durch die Zellwände in den älteren und den jüngeren Blatteilen bedingt sind; diese Unterschiede haben ihren Ursprung in dem Vorhandensein einer Kutikula an der Oberfläche der jugendlichen Blatteile, während diese auf den älteren Teilen fehlt.

Delft,

Laboratorium voor Technische Botanie
der Technische Hoogeschool.