

Über Tropfenbildung in den Schließzellen der Spaltöffnungen von *Tradescantia zebrina*

Von ALBERT FRIEDRICH BEYER (Jena)

Mit 3 Figuren

Einleitung

Bei seinen Untersuchungen „Über den Einfluß chemischer Agenzien auf Stärkegehalt und osmotischen Wert der Spaltöffnungsschließzellen“ beobachtete ARENDS (1925, S. 103) „außer der Stärkelösung auch das Auftreten von Tropfen“. Er hielt sie für Gerbstoffausfällungen, die unter geeigneten Bedingungen Zucker abspalten und auf diese Weise osmotisch wirksam werden könnten. Allerdings hatte er niemals einen Einfluß auf das Öffnen und Schließen der Spalten festgestellt. Wie weit der Zellsaft und wie weit das Plasma an der Bildung der Tropfen beteiligt ist, konnte ARENDS auch nicht entscheiden.

Schon aus den Arbeiten anderer Autoren ist bekannt, daß der Zustand des Plasmas bei den Spaltöffnungsbewegungen sich ändert. So hat LEITGEB (1888, S. 129) beobachtet, „daß bei *Gallonia* mit der Öffnungsbewegung der Stomata der Körnchengehalt des Plasmas bis zum fast völligen Schwinden abnimmt“. WEBER (1925) stellte Unterschiede in der Plasmolyse- und Kernform bei offenen und geschlossenen Spalten fest, ist aber „noch nicht in der Lage, zu erkennen, ob sich dabei Gesetzmäßigkeiten und Beziehungen zur Funktion der Schließzellen ergeben“ (S. 694). Nach KISSELEW (1925) besteht auch eine Beziehung zwischen der Spaltöffnungsbewegung und der Permeabilität des Protoplasmas, welche bei geschlossenen Spalten größer sein soll als bei geöffneten. Auch LINSBAUER (1926, S. 532) ist der Ansicht, „daß die Spaltöffnungsbewegung mit einer Änderung des Plasmakolloids verknüpft ist“.

Es scheinen also neben dem Stärkeumsatz in den Schließzellen plasmatische und nach den Untersuchungen von ARENDS wahrscheinlich auch den Zellsaft betreffende Dispersitätsänderungen beim Öffnen und Schließen der Spalten einen bedeutenden Einfluß auszuüben. Zwar ist es sehr zweifelhaft, ob die ausfallenden Tropfen immer dieselbe Substanz darstellen. Trotzdem muß es von Interesse sein, ihr Entstehen und Zurückgehen unter verschiedenen Be-

dingungen, ihren Zusammenhang mit dem Öffnen und Schließen der Spalten und ihr Verhältnis zum Stärkeauf- und -abbau sowie zum osmotischen Wert einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

Methode

Als Versuchspflanze wählte ich *Tradescantia zebrina*, an der die Tropfenbildung auch von ARENDS vorzugsweise studiert worden ist. Die Pflanze ist auch insofern ein besonders günstiges Objekt, als ihre Spaltöffnungsschließzellen groß und sehr reaktionsfähig sind.

Zur Feststellung der osmotischen Werte nahm ich volumnormale Lösungen. Um die Stärkemengen sicher zu beurteilen, benutzte ich die Methode HEINRICHS (1886): Eau de Javelle löst sämtliche plasmatischen Teile auf, zuletzt auch die Chromatophoren. Dabei wird die Stärke nach meiner Erfahrung selbst in mehreren Tagen nicht angegriffen. Färbt man nach etwa zwei Tagen mit Jod, dann treten auch die kleinsten Stärkekörnchen an der Oberfläche der Chromatophoren deutlich hervor, so daß Zahl und Größe leicht festgestellt werden können. Während LINSBAUER (1927) eine Zählung für ausgeschlossen hält, scheint mir die Möglichkeit doch zu bestehen, wobei freilich unbedingt erforderlich ist, daß man die Schnitte etwa zwei Tage in Eau de Javelle liegen läßt und dann wieder mit Jod behandelt.

Bei meinen Untersuchungen kam es darauf an, festzustellen, ob überhaupt Stärke vorhanden war, ob sie im Laufe des Versuchs auftrat, ob sie angereichert wurde oder an Menge abnahm. Das konnte jedesmal mit einiger Bestimmtheit ermittelt werden. Bei längerer Versuchszeit war es wichtig, darüber Gewißheit zu erhalten, ob die Zellen noch intakt waren. Das wurde nach MOLISCH (1918) durch Zugabe einiger Tropfen einer einprozentigen Silbernitratlösung geprüft. Die lebenden Chloroplasten reduzieren die Silberlösung und färben sich braun, geschädigte Zellen behalten die ursprüngliche Farbe bei. — ARENDS beobachtete die Entmischung nur an Schnitten. Da es sich bald herausstellte, daß Schnitte anders reagieren als ganze Blätter, so benutzte ich zu den meisten Versuchen intakte Blätter, die zur Erleichterung der mikroskopischen Beobachtung mit Wasser injiziert wurden, wenn nicht die Fragestellung schon die Injektion mit einer Lösung verlangte. Zur Injektion verwandte ich die Evakuierung mittels der Luftpumpe, nicht die Zentrifugierung, die FR. WEBER (1927) an-

gewendet hat. Die Behandlung erforderte, weil kleine Saugflaschen benutzt wurden, kaum mehr Zeit als eine Minute.

A. Untersuchungen an Schnitten

I. Entstehen und Zurückgehen der Tropfen

1. In destilliertem Wasser

ARENDS (Seite 105) hat nach dem Einlegen von Flächenschnitten in Wasser in den Schließzellen niemals Tropfenbildung beobachtet. Im Gegensatz dazu konnte ich fast immer (vgl. aber auf Seite 243) wenige Minuten nach dem Einlegen der Schnitte in Aqua destillata Tropfen feststellen. Sie waren anfangs klein, vergrößerten sich aber sehr schnell und vereinigten sich mitunter in jeder Schließzelle zu zwei großen Tropfen. Diese waren nach 45 Minuten noch in der alten Größe, aber sehr undeutlich, zu sehen. Gleichzeitig mit dem Wachsen der Tropfen wurde der Spalt enger. Noch bevor die Tropfen ihre maximale Größe erreicht hatten, waren die Spalten geschlossen. Das war schon nach etwa 10—15 Minuten der Fall.

Bei der Wiederholung des Versuchs stellte sich heraus, daß ein grundlegender Unterschied zwischen frischem, aus dem feuchten Warmhaus geholten Material und dem in der trockenen Laboratoriumsluft aufbewahrten, also etwas angewelkten, bestand.

a) An frischem Material waren unmittelbar nach dem Schneiden Tropfen nicht zu sehen, sie erscheinen aber, wie mitgeteilt, sehr bald.

b) In angewelktem Material waren die Tropfen sofort nach dem Schneiden zu finden, also wohl schon am intakten Blatt vorhanden. Auf diese Frage werde ich später noch näher eingehen.

2. In Salzlösungen

In den Lösungen einer ganzen Reihe von anorganischen und organischen Stoffen konnte ARENDS (S. 105) Tropfenbildung beobachten, auch wenn nur Spuren der Salze vorhanden waren. Wir sahen aber oben, daß Entmischung schon in destilliertem Wasser auftritt. Die gelösten Salze können also höchstens die Tropfenbildung begünstigen. Nach ARENDS sollen sich die Tropfen in Kochsalzlösung am schönsten entwickeln. Um sie in ihrer Entstehung und Veränderung genau zu beobachten, benutzte ich deshalb ebenfalls NaCl-Lösung (0,1 G. M.) und legte Flächenschnitte von der Unterseite der Blätter einer Warmhauspflanze (*Tradescantia*

zebrina) hinein. Zum Vergleich zog ich auch 0,1 G. M. KCl-Lösung heran.

Nach etwa fünf Minuten sind Tropfen zu sehen, die augenscheinlich im Zellsafte entstehen, aber auch ins Cytoplasma eintreten können. Diese Beobachtung hat auch LINSBAUER (1927) gemacht. Auf seine Versuche werde ich später nochmals zurückkommen. Die Tropfen wachsen zunächst einzeln, vereinigen sich

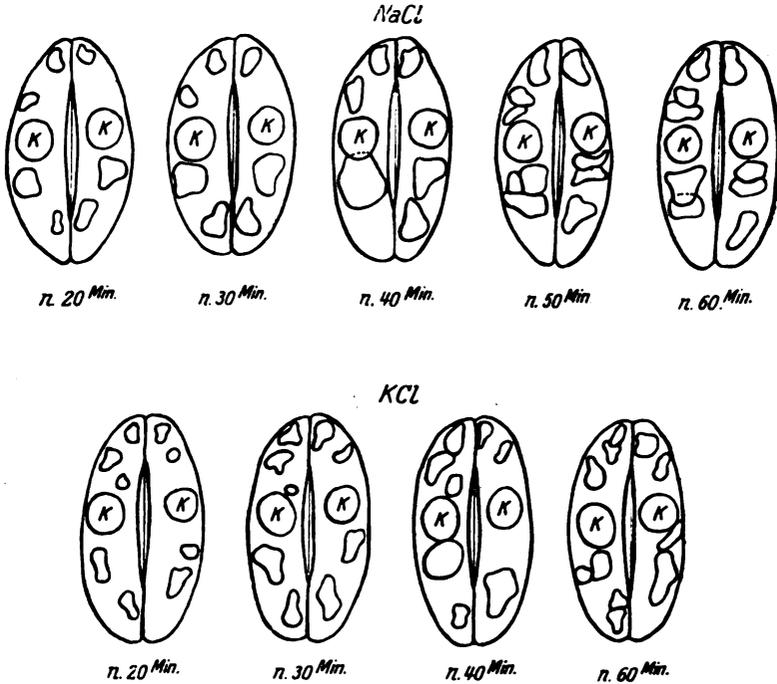


Fig. 1

zu größeren, teilen sich wieder, schieben sich zum Teil unter die Kerne, werden nach 50 Minuten undeutlicher und sind schließlich nach etwa 90 Minuten fast nicht mehr zu erkennen. Vergleiche Figur 1.

In höheren Konzentrationen (0,5 G. M.) sind die Erscheinungen dieselben, nur treten die Tropfen noch rascher auf und verschwinden viel später. Eine primäre Veränderung im Plasma, wie sie ARENDS gesehen haben will, habe ich nicht feststellen können.

Besonders gut, vielleicht zufällig, konnte der Entmischungsvorgang in Gipswasser beobachtet werden. 6¼ Minuten nach dem Einlegen der Schnitte waren in der Nähe des Kerns die ersten

Anzeichen einer Tropfenbildung zu erkennen. Nach kurzer Zeit erschienen dann im Cytoplasma auch zwischen den Chromatophoren kleine Tropfen, die den ganzen Zwischenraum ausfüllten. Sie kamen vermutlich aus der Mitte der Zelle, traten über die Chromatophoren und vereinigten sich zu wenigen (meist zweien), aber großen Tropfen.

3. In Rohrzuckerlösung

Auch in Rohrzuckerlösung (verwendet wurden Konzentrationen von 0,25 G. M. ab) traten kurze Zeit nach dem Schneiden Tropfen auf, die aber viele Tage erhalten blieben und erst beim Absterben der Zellen verschwanden. Die Beobachtung machte

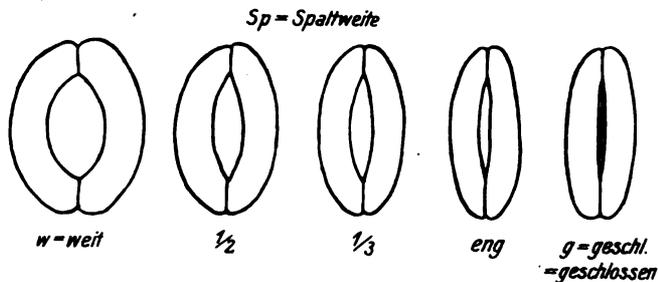


Fig. 2

St. = Stärkequantität.
 s. v. = sehr viel.
 v. = viel.
 w. = wenig.
 s. w. = sehr wenig.
 k. = keine.

Pl. = Plasmolyse.
 + = vorhanden.
 — = nicht vorhanden.
 Gr. + = Grenzplasmolyse.
 Tr. = Tropfen.
 n. = nach.

auch ARENDS, und zwar bei der Anwendung von CaCl_2 , MgSO_4 und bei Lösungen anderer schwer permeierender Salze. In Rohrzuckerlösung fielen ebenfalls die Tropfen rascher und kräftiger aus, wie oben bereits von Salzlösungen mitgeteilt wurde.

II. Wiedererzeugung der Tropfenbildung

Es fragt sich nun weiter, ob die Tropfenbildung nur ein einmal herbeizuführender Vorgang ist oder ob sie nach ihrem Verschwinden von neuem hervorgerufen werden kann. Darüber sollen die nächsten Versuche Aufschluß geben.

1. Entstehen und Zurückgehen der Tropfen in Wasser und Wiedererzeugen in Salzlösung

11. 11. 26. Nach dem Einlegen der Schnitte in Wasser traten bald Tropfen auf, die nach einiger Zeit wieder zurückgingen. Um

die Gewähr zu haben, daß sie vollständig zurückgegangen waren, ließ ich die Schnitte 24 Stunden in Wasser liegen. Brachte ich sie nun in 0,1 G. M. NaCl-Lösung, so entstanden von neuem Tropfen, die nach etwa einer Stunde maximale Größe angenommen hatten.

2. Wiedererzeugung der Tropfen in höherer Konzentration derselben Salzlösung

Zur Erklärung der in den Tabellen vorkommenden Abkürzungen siehe unter Fig. 2.

12. 11. 26. Von Blättern aus dem Warmhaus wurden Schnitte abgenommen und in 0,1 G. M. NaCl-Lösung eingelegt.

Tabelle 1

	Vers.-Dauer in Minuten	Spalt	Tropfen	Plasmolyse
9 ⁵⁵	0	weit	—	—
10 ¹⁰	15	1/2	+	—
10 ⁵⁵	60	1/2	—	—
jetzt eingelegt in NaCl (1,0)				
10 ⁵⁵		geschl.	—	+ stark
11 ¹⁰	15	geschl.	+	+

15 Minuten nach dem Einlegen der Schnitte fand ich die Tropfen sehr gut ausgebildet. Nach weiteren 45 Minuten gingen sie bis zur Unkenntlichkeit zurück. Beim Einlegen in 1,0 G. M. NaCl trat sofort sehr starke Plasmolyse auf, so daß wegen der Verkleinerung der Vakuole die Tropfen nicht gleich in der üblichen Form gebildet werden konnten. Erst nach 15 Minuten hatten sie Kugelgestalt angenommen. Die Entmischung war sicher von ihrem ersten Auftreten her noch irgendwie erhalten. Einige Stellen im Zellsafte zeigten sich durch den Einfluß der stärkeren Salzlösung schon vor dem Auftreten der Tropfen stärker lichtbrechend als andere.

Diesen Versuch wiederholte ich, ließ aber die Schnitte anstatt 60 Minuten 24 Stunden in der Lösung liegen, da die Möglichkeit bestand, daß nach der kurzen Zeit von 60 Minuten noch Entmischung, wenn auch unsichtbar, vorhanden sein konnte, die dann durch Lösungen höherer Konzentrationen mit Leichtigkeit stärker hervorzurufen wäre. Ferner benutzte ich bei der Wiederholung des Versuchs nicht 1,0 G. M. NaCl-Lösung, da sie zu stark plasmolytisch, sondern 0,20 G. M. NaCl.

In 0,1 G. M. NaCl-Lösung entstanden Tropfen, die nach einiger Zeit zurückgingen. Aus dem angegebenen Grunde ließ ich die Schnitte 24 Stunden in der Lösung liegen. Beim Behandeln mit 0,2 G. M. NaCl traten dann wieder Tropfen auf, jedoch nicht so deutlich wie bei der direkten Einwirkung derselben Lösung.

3. Entstehen der Tropfen in NaCl, Wiedererzeugen in Rohrzuckerlösung

12. 11. 26. Die in 0,1 G. M. NaCl-Lösung erzeugten Tropfen gingen nach eintägigem Liegen in der Lösung vollkommen zurück. Sie traten jedoch in Rohrzuckerlösung (0,40 G. M.) wieder sehr stark auf in Verbindung mit Plasmolyse. Setzte ich nun Wasser zu, dann ging die Plasmolyse zurück, die vorher stark lichtbrechenden abgerundeten Tropfen wurden größer. Es ist anzunehmen, daß sie selbst Wasser aufgenommen hatten. Dann blieb ihre Größe konstant, sie veränderten aber dauernd ihre Gestalt. So trat am unteren Teile eines solchen Tropfens zuerst eine seitliche Einschnürung und dann vollkommene Abtrennung ein. Das abgetrennte Stück verschwand in die Tiefe. Ebenso war es am oberen Ende. Der mittlere Teil vereinigte sich nun mit einem benachbarten kleineren Tropfen, um als Ganzes wiederum die Form zu verändern.

Wir haben also gesehen, daß sich die Tropfenbildung in Schnitten wieder hervorrufen läßt. Über das diesbezügliche Verhalten ganzer Blätter werde ich später berichten.

B. Untersuchungen am ganzen Blatt

I. Tropfenbildung durch Verwundung

ARENDS hat festgestellt, daß in bezug auf das Öffnen und Schließen der Spalten Schnitte anders reagieren als ganze Blätter. Er führt dieses Verhalten auf die Verwundung des Gewebes zurück. Bei meinen Untersuchungen stellte es sich heraus, daß auch hinsichtlich der Tropfenbildung ein Unterschied zwischen Schnitten und Blättern besteht. Aus diesem Grunde habe ich die diesbezüglichen Versuche von ARENDS wiederholt und ergänzt mit besonderer Berücksichtigung der Tropfenbildung. Es wurden nebeneinander beobachtet: 1. Schnitte, 2. mit Wasser injizierte Blätter, 3. nicht-injizierte, verletzte Blätter, die in Wasser beobachtet wurden, und 4. Blattstücke.

10. 2. 27. 9 Uhr. 1. Schnitte: In Wasser treten Tropfen auf, die Spalten schließen sich.

2. Injizierte Blätter: Es entstehen keine Tropfen, die Spalten bleiben weit geöffnet.

3. Nichtinjizierte, durch Schnitte und Stiche verletzte Blätter: In der Nähe der Wundstellen erschienen Tropfen, und die Spalten schlossen sich fast vollständig. Um das Blatt ganz übersehen zu können, wurde es mit Wasser injiziert und auf diese Weise durchsichtig gemacht. An unverletzten inneren Stellen waren Tropfen nicht zu sehen, die Spalten blieben hier weit geöffnet.

4. Quadratische Blattstücke mit einer Seitenlänge von etwa 5 mm und Streifen von 2—3 mm Breite wurden herausgeschnitten und in Wasser untersucht. In der Nähe der Schnittflächen kamen Tropfen nach kurzer Zeit. Am andern Tage konnte ich auch an weiter abliegenden Stellen Tropfen beobachten. Sie gingen in den dünneren Partien des Blattes wieder zurück, waren aber an den dickeren Stellen noch nach 48 Stunden vorhanden.

Nun fragt es sich noch, ob beim Schneiden selbst oder schon durch *Druck oder Zug* beim Festhalten des Blattes Entmischung hervorgerufen wird.

1. Auf ein injiziertes Blatt (ohne Tropfen, mit weiten Spalten) wurde mit dem Finger und mit dem abgerundeten Glasstab ein Druck ausgeübt, ohne das Gewebe zu verletzen. Tropfen traten nicht auf, die Spalten blieben weit geöffnet.

2. Dasselbe Blatt wurde zwischen zwei Fingern gezerrt. Es entstanden keine Tropfen, die Spalten blieben ebenfalls weit geöffnet.

3. Durch stärkeren Druck mit dem Glasstab verletzte ich das Gewebe. Sofort kamen Tropfen, die Spalten verengerten sich auf ein Drittel ihrer Werte. Auch wenn ich unter Wasser die Blätter durch Einschnitte verletzte, fielen Tropfen aus.

Durch Druck und Zug waren Tropfen also nicht hervorzurufen, sondern nur durch Verwundung des Gewebes.

Um nun entscheiden zu können, ob die Aufhebung der Gewebespannung durch Verletzen allein schon zur Hervorrufung der Entmischung genügt, oder ob der aus den Zellen austretende Saft die Tropfenbildung veranlaßt, untersuchte ich Flächenschnitte unmittelbar nach dem Schneiden in Wasser. Tropfen konnten wie gewöhnlich nicht beobachtet werden. Legte ich dann aber dieselben Schnitte in den Brei, den ich durch Zerdrücken des Blattes, von dem ich die Schnitte vorher abgenommen hatte, erhielt, so trat sofort sehr starke Tropfenbildung auf, und die Spalten schlossen sich. So schnell habe ich in Wasser nie Tropfen entstehen sehen. Es ist also anzunehmen, daß der bei der Verwundung austretende Zellsaft in den benachbarten intakten Schließzellen die Tropfen-

bildung verursacht. Der Zellsaft muß wohl von außen in das Plasma eingedrungen sein und von dort aus die Entmischung in der Vakuole angeregt haben. Das Plasma scheint also von außen für den Zellsaft permeabler zu sein als von der Vakuole aus. Der Versuch, durch Abspülen der verletzten Blätter mit destilliertem Wasser oder durch Schneiden oder Verletzen unter Wasser die Tropfenbildung zu unterdrücken, gelang, wohl wegen der schleimartigen Beschaffenheit des ausgetretenen Inhalts, niemals.

II. Tropfenbildung durch Wasserentzug

1. Durch Welken

1. Wie ich schon früher mitgeteilt habe, waren in Schnitten, die ich von angewelkten Blättern abnahm, unmittelbar nach dem Schneiden Tropfen vorhanden. Um die Entmischung auch am intakten Blatt zu studieren, injizierte ich Blätter von Pflanzen, die schon einige Tage im Laboratorium standen, mit Wasser. Durch sofortige Untersuchung konnten Tropfen nachgewiesen werden. Da lag der Gedanke sehr nahe, daß sie schon am Blatt vorhanden gewesen sein könnten. Ich untersuchte deshalb ein Blatt ohne vorheriges Injizieren mit der Wasserimmersion (ZEISS I 90. 1,2) und konnte Tropfen feststellen. Die Spalten waren geschlossen.

Zur Kontrolle behandelte ich frische und angewelkte Blätter nebeneinander:

19. 3. 27. 10 Uhr. 1. a) Blätter aus dem Warmhaus: Spalt weit, Tropfen nicht vorhanden.

b) Aus der feuchten Glocke: Spalten offen, keine Tropfen vorhanden.

c) Aus dem Laboratorium: Spalten geschlossen, Tropfen vorhanden.

d) Welche Blätter (von einer Pflanze, die einige Tage kein Wasser bekommen hatte): Spalten geschlossen, Tropfen vorhanden.

2. Einen Zweig von einer frischen Pflanze aus dem Warmhause (Spalten weit, ohne Tropfen) legte ich im Laboratorium bei 18° C frei hin und ließ ihn welken. Schon nach drei Stunden konnten nach der Injektion mit Wasser Tropfen nachgewiesen werden; die Spalten waren geschlossen. Die Blätter blieben in Wasser liegen. Innerhalb weiterer 2½ Stunden gingen die Tropfen zurück. Die Spalten blieben geschlossen. Die Erklärung dafür folgt später.

3. Auch wenn die Pflanze im Freien der Luft ausgesetzt wurde, traten Tropfen auf.

Die Angabe von ARENDS, daß Tropfen in welkenden Blättern nicht auftreten, kann ich also nicht bestätigen.

2. Durch Plasmolyse

Werden bei Wasserentzug durch Welken Tropfen erzeugt, dann müssen sie wohl auch durch osmotisch wirksame Stoffe hervorgerufen werden können, also etwa durch Salz- und Zuckerlösung. Die Blätter wurden mit den betreffenden Lösungen (NaCl, CaCl₂ und Rohrzucker) injiziert. Dabei fragt es sich, welche Konzentrationen Tropfenbildung hervorrufen.

22. 3. 27. 10 Uhr. Frisches Material: Spalten weit, ohne Tropfen.

a) In NaCl-Lösung:

Tabelle 2

NaCl	Plasmol.	Spalt	Tropfen	Tropfen zurückgegangen	Deplasm.	Spalt
0,1	—	weit n. 6 Std. eng	— n. 6 Std. +	n. 16 Std.	n. 16 Std.	weit
0,2	—	weit n. 6 Std. eng	— n. 6 Std. +	n. 16 Std.	n. 16 Std.	weit
0,3	—	eng	+	n. 6 Std.	n. 40 Min.	n. 6 Std. halb
0,4	+	geschl.	+	n. 6 Std. —	n. 40 Min.	n. 6 Std. halb
0,5	+	geschl.	+	n. 6 Std. —	n. 40 Min.	n. 6 Std. halb

Von 0,3 G. M. NaCl ab waren Tropfen sofort nach der Injektion zu beobachten. Die Blätter aus 0,3—0,5 G. M. wurden in Wasser eingelegt, um das Zurückgehen der Tropfen zu verfolgen.

Aus 0,4 und 0,5 G. M.: Noch nach sechs Stunden waren in Wasser die Tropfen vorhanden und die Spalten geschlossen. Erst nach 17 Stunden gingen sie zurück, und die Spalten öffneten sich weit. Nur bei einigen Stomata waren jetzt noch Tropfen vorhanden und die Spalten geschlossen.

Bei 0,5 G. M. trat starke Plasmolyse auf, die in Wasser nach etwa 40 Minuten vollkommen zurückging, ohne daß die Tropfen verschwanden. Blätter, die mit 0,1 und 0,2 G. M. behandelt wurden, blieben in der Salzlösung liegen. Nach etwa sechs Stunden traten Tropfen auf. Die Spalten waren eng. Nach 16stündigem Liegen in Wasser verschwanden dann die Tropfen, und die Spalten öffneten sich weit.

Daß sich die Tropfen in denselben Zellen sogar mehreremal hintereinander abwechselnd erzeugen und zum Verschwinden bringen lassen, zeigt folgender Versuch:

Frische Blätter wurden mit 0,5 G. M. NaCl-Lösung injiziert. Starke Plasmolyse, Spaltenschluß, Tropfenbildung.

Einlegen in Wasser: Nach 35 Minuten: Deplasmolyse, Tropfen zurückgegangen, Spalten wenig geöffnet.

Nach 60 Minuten: Spalten halb geöffnet.

Einlegen in 0,5 G. M. NaCl: Plasmolyse, Spaltenschluß, Tropfen.

Einlegen in Wasser: Deplasmolyse, Öffnen der Spalten, die Tropfen gehen zurück.

b) In CaCl₂-Lösung. — 22. III. 27

Hierbei ist besonders deutlich zu sehen, daß die Tropfenbildung schon durch Konzentrationen hervorgerufen werden kann, die noch nicht plasmolysieren.

Tabelle 3

Ca Cl ₂	Pl.	Sp.	Tr.	Tr. zurück	Depl.	Spalt
0,1	—	weit	—			
0,2	—	teils halb	teils +	nach 16 Std.	+	weit
0,3	—	geschl.	+	„ „ „	+	„
0,4	teils +	geschl.	+	„ „ „	+	„
0,5	+	geschl.	+	„ „ „	+	„

Plasmolyse trat sofort erst bei 0,4 G. M. CaCl₂ auf, während Tropfen schon bei 0,2 G. M. erschienen. Am schönsten bildeten sie sich bei Plasmolyse aus. Tropfen und Plasmolyse gingen nach 16stündigem Liegen in Wasser zurück. Die Spalten öffneten sich ganz.

c) In Rohrzuckerlösung. — 23. III. 27

Tabelle 4

	Pl.	Sp.	Tr.	nach 20 Stunden		
				Pl.	Sp.	Tr.
0,10	—	weit	—	—	geschl.	+
0,11	—	„	—	—	g.	+
0,12	—	„	—	—	g.	+
0,13	—	„	—	—	g.	+
0,20	—	„	—	—	g.	+
0,25	—	halb	—	Gr. + ?	g.	+
0,35	—	teils halb „ eng	+	+ ?	g.	+

In 0,35 G. M. Rohrzuckerlösung war sofort nach der Injektion Tropfenbildung zu sehen. Die Spalten schlossen sich. Erst nach

langem Liegen in derselben Lösung traten in allen Konzentrationen Tropfen auf. Bei Plasmolyse waren sie besonders deutlich, und zwar in Konzentrationen über 0,25 G. M. Das war auch die Grenze, bei der sich die Spalten sofort nach dem Injizieren zu schließen begannen, bei der wahrscheinlich auch die Tropfenbildung sofort eingeleitet wurde. Von ihr war allerdings direkt nach der Injektion noch nichts zu sehen. Sie trat erst später auf. Es scheint also zu der osmotischen Wirkung der gelösten Stoffe noch eine chemische hinzuzukommen, die zwar noch nicht einwandfrei erwiesen ist.

III. Einwirkung von Basen und Säuren auf die Entmischung

Nach ARENDS soll die Tropfenbildung durch Ammoniak in 5—15 Minuten zum Verschwinden gebracht werden, während sie in verdünnten Säuren viele Stunden lang bleibt. Demgegenüber beobachtete SCARTH (1926), daß verdünntes Ammoniak (Konzentrationsangabe fehlt) die Bildung der Tropfen beschleunigt und ihre Oberfläche härtet, im Überschuß allerdings sie auflöst, und daß verdünnte Essigsäure die Tropfen zerfließen läßt. Um die Frage näher zu prüfen, erzeugte ich durch Rohrzuckerlösung (0,5 G. M.) und durch Welkenlassen Tropfen und setzte sie dann der Einwirkung von Ammoniak oder Essigsäure aus.

1. Frisches Material

25. III. 27. 2 Uhr. Keine Tropfen, Spalten weit. Injiziert mit Zuckerlösung (0,5 G. M.): Tropfen vorhanden, Spalt halb geöffnet. Erst eine Stunde nach dem Injizieren war der Spalt vollkommen geschlossen. Plasmolyse trat nicht auf. Nun wurden die Blätter mit Ammoniak (0,01—0,05 und 0,1 G. M.) oder Essigsäure (0,01 bis 0,05 und 0,1 G. M.) injiziert.

Tabelle 5

	Ammoniak			Essigsäure		
	Pl.	Sp.	Tr.	Pl.	Sp.	Tr.
0.01	—	geschl.	n. 1½ Std. +	—	geschl.	n. 1½ Std. +
0.02	—	geschl.	n. 1½ Std. +	—	geschl.	n. 1½ Std. +
0.03	—	geschl.	n. 1½ Std. +	+?	geschl.	n. 1½ Std. +
0.05	—	halb	n. 1½ Std. —	+?	geschl.	n. 1½ Std. +
0.10	—	halb	n. 1½ Std. —	+?	geschl.	n. 1½ Std. +

a) Ammoniak. — Nach etwa 1½ Stunden waren von 0,05 G. M. ab die Tropfen verschwunden. Die Spalten begannen sich mit steigender Konzentration schneller zu öffnen.

b) Essigsäure. — Von 0,03 G. M. ab scheinen die Zellen getötet zu sein. Mit zunehmender Konzentration (bis 0,03 G. M.) wurden die Tropfen stärker lichtbrechend. Die Spalten blieben geschlossen.

2. Angewelkte Blätter

26. III. 27. 9 Uhr. Ein Zweig einer Warmhauspflanze wurde drei Stunden der trockenen Laboratoriumsluft ausgesetzt. Nach der Injektion der Blätter mit Wasser konnten Tropfen festgestellt werden. Die Spalten waren geschlossen. Die Blätter wurden ebenfalls mit Ammoniak und Essigsäure behandelt.

Tabelle 6

	Ammoniak			Essigsäure		
	Plasmol.	Spalt	Tropfen	Plasmol.	Spalt	Tropfen
0,01	—	g.	—	—	g.	+
0,02	—	g.	—	—	g.	+
0,03	—	g.	—	—	g.	+
0,05	—	g.	—	—	g.	+
0,10	—	g.	—	—	g.	+

a) Ammoniak. — Die Tropfen schienen sich aufzulösen, sie waren in ganz kurzer Zeit überhaupt nicht mehr zu sehen. Die Chromatophoren, welche durch die Tropfen weiter nach außen gedrängt wurden, behielten diese Lage bei, so daß große scheinbare Lücken auftraten.

b) Essigsäure. — Die vorhandenen Tropfen wurden bedeutend stärker lichtbrechend. Sie kugelten sich stark zusammen. Außerdem traten viele kleinere Tropfen auf, so daß bei höheren Konzentrationen (von 0,03 G. M. ab) die ganze Schließzelle davon angefüllt war.

c) Wasser. — Die Tropfen bleiben.

d) Da durch Essigsäure die Tropfenbildung nach Vorbehandlung mit Zuckerlösung verstärkt wurde, injizierte ich frisches Material (mit weiten Spalten, ohne Tropfen) direkt mit der Säure (0,01—0,1 G. M.). In den Konzentrationen 0,01—0,03 G. M. blieben die Spalten halb offen, es traten keine Tropfen auf. Von 0,05 G. M. an sah der Zellinhalt verändert aus. Die Zellen waren wahrscheinlich tot.

Die Beobachtung von ARENDS, daß in verdünnten Säuren die Tropfen verstärkt werden und in verdünnter Ammoniaklösung verschwinden, wird also hierdurch bestätigt, im Gegensatz zu SCARTH, der das Gegenteil angibt. Vielleicht kann das verschieden-

artige Verhalten darauf zurückgeführt werden, daß SCARTH die betreffenden Agenzien auf gefärbte Tropfen wirken ließ, so daß noch andere chemische Vorgänge in Betracht kommen.

IV. Tropfenbildung durch Farbstoffe

LINSBAUER brachte in seiner letzten Arbeit (1927) die Ergebnisse seiner Untersuchung der Permeabilitätsverhältnisse bei den Schließzellen. Er versuchte vor allem, mit Hilfe der Vitalfärbung der Lösung der Frage näher zu kommen. Dabei stellte sich heraus, daß basische Farbstoffe, besonders Neutralrot, in die Schließzellen eindringen. Sie durchwandern den Plasmaschlauch, ohne Plasma und Kern zu färben, und treten in die Vakuole ein, wo der Zellsaft gefärbt wird. In Fällen, in denen Kern und Plasma den Farbstoff annahmen, war eine Schädigung eingetreten und die Zelle getötet. Beim Eindringen in den Zellsaft wurde dieser zuerst diffus gefärbt, dann schieden sich Tröpfchen in verschiedener Zahl und Größe aus, die den Farbstoff stärker speicherten und deshalb intensiver gefärbt erschienen als der sie umgebende Zellsaft.

Eine ähnliche Art von Farbstoffspeicherung wurde auch schon von anderen Autoren beobachtet. PFEFFER (1888) spricht von „Farbstoffvakuolen“. SCHAEDE (1924) arbeitete mit Methylrot und fand, „daß der Zellsaft (in den Epidermiszellen von *Allium cepa*) sehr schnell große Mengen von Farbstoff aufnimmt, die schließlich in Form von tief rubinroten Kugeln ausfallen“ (S. 222). KÜSTER (1926) nimmt an, daß die Farbtropfen ihre Entstehung einer Vakuolenkontraktion zu verdanken haben. Ungefähr gleichzeitig, aber unabhängig von LINSBAUER, beobachtete SCARTH (1926) ebenfalls im Zellsafte der Schließzellen von *Tradescantia zebrina* Entmischung und Farbstoffspeicherung. Ich werde am Schluß dieses Abschnittes wieder darauf zurückkommen.

Die Ansicht LINSBAUERS, daß die in die Schließzellen eindringenden Farbsalze den Anlaß zu einer „Entmischung“ (ARENDS) geben und die auftretenden Tröpfchen dann den Farbstoff an sich reißen, halte ich, nach meinen bisherigen Erfahrungen zu urteilen, gegenüber KÜSTER für wahrscheinlicher. Es mußte also untersucht werden, ob die LINSBAUERSCHEN Farbstoffkugeln sich mit den von mir beschriebenen Tropfen identifizieren lassen.

28. 6. 27. 9 Uhr. Von frischen Warmhauspflanzen wurden Blätter abgenommen und mit Wasser injiziert, um nach dem Einlegen in die Farblösung die Tropfen im Entstehen beobachten zu können. Die Spalten waren weit geöffnet, Tropfen nicht vorhanden. Ganze

Blätter und Schnitte, die ich von den injizierten Blättern abnahm, wurden in eine Lösung von Neutralrot (1 : 2000) eingelegt.

a) Schnitte: Nach 15—20 Minuten, am Rande nach 10—15 Minuten, waren die Spalten geschlossen, die Tropfen klein und zahlreich aufgetreten. Kern und Plasma blieben ungefärbt.

b) Intakte Blätter (injiziert): Nach 35—40 Minuten waren die Spalten geschlossen und Tropfen vorhanden.

In der eben benutzten starken Farblösung traten die Tropfen sehr deutlich hervor. Um zu untersuchen, ob sie auch in schwächeren Konzentrationen erscheinen, wandte ich Farblösungen verschiedener Stärke an.

6. 7. 27. Ausgangsmaterial: Frisch, weite Spalten, keine Tropfen.

a) Schwache Lösung (etwa 1 : 50 000)

11 Uhr: Die Blätter wurden mit der Lösung injiziert: Spalten weit, keine Tropfen aufgetreten.

12.20 Uhr: Die Spalten waren $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ geöffnet, keine Tropfen. Zellsaft ungefärbt.

Nach 4 bis 5 Stunden: Zellsaft diffus gefärbt, in einigen Zellen Tropfen vorhanden, Spalten geschlossen.

7. 7. 11 Uhr: Obige Blätter wurden in Wasser eingelegt. Kern und Plasma waren intakt, viele Schließzellen farbfrei, $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ geöffnet, ohne Tropfen.

1.45 Uhr: Die meisten Schließzellen waren farbfrei oder nur ganz schwach gefärbt, die Spalten alle mindestens $\frac{1}{2}$ geöffnet. Wo Tropfen waren, sind sie geblieben.

5.45 Uhr: Spalten geschlossen, Tropfen sehr schwach, meistens keine vorhanden.

11. 7. 10.15 Uhr: Spalten weit, keine Tropfen. Leichte Färbung (mehr oder weniger merklich) beibehalten. Bei stärkerer Färbung sind die Spalten weniger weit offen.

Der Farbstoff scheint die Aktivität der Zellen etwas zu vermindern, jedoch bei leichter Färbung des Zellsaftes nur in geringem Maße; denn die Spalten öffnen sich wieder in der üblichen Tagesperiode. Nach dem Entfärben sind die Schließzellen wieder funktionsfähig, was ich auch mit Silbernitrat nachweisen konnte.

b) Mittelstarke Lösung (etwa 1 : 10 000)

6. 7. 27. 11.05 Uhr: Blätter mit der Lösung injiziert: Spalten weit, keine Tropfen.

12.30 Uhr: Spalten geschlossen, Tropfen vereinzelt aufgetreten. Der Zellsaft ist gleichmäßig durchgefärbt.

1.40 Uhr: Aus dem Zellsaft heraus haben sich in den meisten Schließzellen Tropfen gebildet. Eine Zelle habe ich besonders beobachtet. Die rechte Hälfte enthielt zwei große Tropfen, die linke war homogen gefärbt. In ihr bildeten sich im Laufe von 60 Minuten fünf Tropfen heraus, die sich zu drei großen vereinigten. Der restliche Teil des Zellsaftes war schwächer rot gefärbt.

c) In starker Farblösung (etwa 1 : 4000)

7. 7. 27. 10.35 Uhr: Blätter mit der Farblösung injiziert (Fig. 3).

11.05 Uhr (n. 30 Minuten): Zellsaft leicht diffus gefärbt, Spalt wenig geöffnet, keine Tropfen vorhanden (Stadium 1).

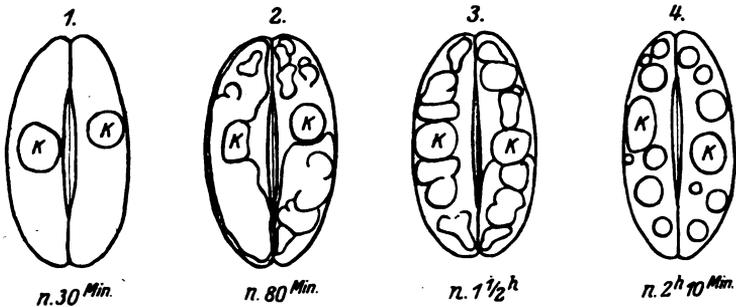


Fig. 3

11.55 Uhr (n. 80 Minuten): In den meisten Schließzellen ist der Zellsaft stark diffus gefärbt, in einzelnen schon differenziert (Stad. 2). Spalten geschlossen.

12.05 Uhr (n. 1½ Stunden): Meistens Stad. 2, mehrere Zellen Stad. 3.

12.45 (n. etwa 2 Stunden): Im allgemeinen Stad. 3, einige Zellen im Stad. 4, Kerne und Plasma intakt.

11. 7. 27. 10 Uhr: Die Epidermiszellen sind abgestorben, die Tropfen verschwunden.

Wir haben also gesehen, daß durch Neutralrotlösung Entmischung hervorgerufen wird, welche um so stärker und rascher auftritt, je stärker die Farblösung ist. Die Spalten beginnen sich schon zu schließen, bevor von einer Tropfenbildung etwas zu sehen ist, wenn der Zellsaft noch diffus gefärbt erscheint. Es ist möglich, daß jetzt schon die Entmischung vorbereitet ist.

Benutzte ich sehr starke Farblösungen, dann trat in kurzer Zeit (10—20 Minuten) eine große Anzahl kleiner Tröpfchen auf. Ein Verschmelzen oder Größerwerden habe ich nicht beobachtet. Dasselbe Ergebnis hatte auch LINSBAUER. Nach seiner Ansicht führt starke Farbstoffkonzentration zu einer Vergiftung der Zelle. Die in schwächeren Lösungen erzeugten Tropfen gehen jedoch wieder zurück, wenn man die Blätter in Wasser einlegt. Die Schließzellen bleiben funktionsfähig.

LINSBAUER (S. 545) verglich Blätter mit offenen und solche mit geschlossenen Spalten und stellte fest, daß „bei offenen Spaltöffnungen im Licht regelmäßig und frühzeitig Farbstoffkugeln im Zellsaft der Schließzellen auftreten,“ während „sich die Schließzellen bei geschlossener Spalte und im Dunkeln oder schwach diffusen Lichte auch bei langem Liegen in der Farblösung homogen“ färben. Er nimmt an, daß „die Farbstoffaufnahme seitens der Schließzellen durch das Licht gefördert wird“. Nach unsern Erfahrungen ist es aber auch möglich, daß in den Schließzellen belichteter, weit geöffneter Spalten der Stoff, der den Farbstoff bindet, in größeren Mengen vorhanden ist als in den Schließzellen geschlossener Spalten.

Bisher ging ich stets von Material aus, das noch keine Tropfen besaß. Sie wurden erst durch den Farbstoff hervorgerufen und gefärbt. Es färben sich aber auch bereits vorhandene Tropfen, wie man sie an Schnitten sehr leicht zu sehen bekommt, noch nachträglich mit Neutralrot. Dabei verändern sie ihre Form und Größe nicht, was durch Zeichnung kontrolliert wurde. Es kann also angenommen werden, daß die Tropfen mit der Grundsubstanz der LINSBAUERSCHEN „Farbstoffkugeln“ identisch sind.

SCARTH (1926) hält die Tropfen für Hohlkugeln, deren Wandung aus Lipoiden oder organischen Säuren, vielleicht Gerbsäuren, besteht und deren Inneres ein wässriges Sol darstellt (S. 219). Hiermit steht eine Beobachtung in Einklang, die ich an Schnitten machte, welche 48 Stunden in 0,25 G. M. Rohrzuckerlösung lagen und dann in Wasser gebracht wurden. Die vorher vorhanden gewesene Plasmolyse ging zurück, die beiden in einer Schließzelle befindlichen Tropfen bewegten sich zu den Enden und platzten. Dabei trat ihr Inhalt aus. Es kann angenommen werden, daß während des zweitägigen Liegens in der Zuckerlösung zwischen Tropfen und Außenlösung ein osmotisches Gleichgewicht zustande gekommen ist. Dieses wurde aber gestört, sobald die Schnitte in Wasser kamen. Die Tropfen nahmen das Wasser begierig auf, so

daß infolge des wachsenden Innendrucks die Tropfenwand gedehnt wurde und platzte. Dieser Vorgang ist aber nur möglich, wenn eine Tropfenmembran angenommen wird.

V. Tropfenbildung durch Verdunkelung

Bisher habe ich als Ausgangsmaterial meist nur Pflanzen benutzt, deren Stomata weit geöffnet und stärkefrei waren. Bei diesem Material konnte ich nie Tropfen feststellen. Um auch einen Versuch mit stärkereichen Schließzellen zu machen, nahm ich am 21. 6. 27, nachmittags 5.30 Uhr, von Warmhauspflanzen Blätter ab und stellte nach dem Injizieren Spaltenschluß und Tropfenbildung fest. Die betreffenden Blätter waren im Warmhaus durch andere etwas verdeckt gewesen und hatten weniger Licht bekommen. Da lag der Gedanke nahe, daß die Tropfenbildung vom Licht beeinflusst wird und mit dem Spaltenschluß in Beziehung stehen kann. Daß Verdunkeln, sogar schon Wechsel in der Intensität des Lichtes, Spaltenschluß herbeigeführt, ist ja seit langem bekannt.

Meine weiteren Versuche hatten also zu prüfen, ob weit geöffnete Spalten durch Verdunkelung nicht bloß zum Schluß, sondern auch zur Tropfenbildung veranlaßt werden können.

Bisher hatte ich Blätter verwandt, deren Unterseite grün gefärbt war, weil mir auffiel, daß Blätter mit rotvioletter Unterseite anders reagierten. Hier möchte ich auf diese Tatsache kurz eingehen.

23. 6. 27. 2.30 Uhr. Im Warmhaus standen Pflanzen, die am selben Stengel Blätter mit rotvioletter und solche mit grüngefärbter Unterseite trugen. Sämtliche Blätter eines Sprosses waren gleich gut beleuchtet. Von jeder einzelnen Gruppe nahm ich Blätter ab, injizierte sie mit Wasser und stellte fest, daß in den Schließzellen der unterseits rotviolettgefärbten Blätter Tropfen vorhanden und die Spalten geschlossen waren, während grüne Blätter keine Tropfen und weit geöffnete Spalten aufwiesen. Manche zeigten auf der Unterseite rotviolette Flecke, in denen sich die Spalten eher geschlossen hatten und Tropfenbildung stärker aufgetreten war als an den grünen Stellen. Die Schließzellen der rotviolett gefärbten Partien der Blattunterseite scheinen also auf Wechsel in der Lichtintensität leichter zu reagieren als die der unterseits grüngefärbten Blätter. Um gleichmäßiges Material zu haben, wurden deshalb stets nur Blätter mit grün gefärbter Unterseite benutzt.

24. 6. 27. 10 Uhr. Frisches Material: Spalten weit, keine Tropfen.

1. Mit Wasser injiziert, darin belassen und dunkelgestellt.

Nach 30 Minuten: Alle Spalten eng, mit Ausnahme der mittleren Partien der beiden Blatthälften.

Nach 40 Minuten: Alle Spalten sind vollkommen geschlossen. Starke Tropfenbildung.

2. Andere injizierte Blätter bleiben im Licht. Ihre Spalten sind nach 40 Minuten noch geöffnet. Tropfen sind nicht aufgetreten.

3 Uhr: Der Versuch wurde mit dem gleichen Ergebnis wiederholt.

Bei sonst gleichmäßig behandelten Blättern trat also Spaltenschluß nur bei den verdunkelten ein. Auch nur sie zeigten Entmischung.

30. 6. 27. 9 Uhr: Um außer dem Licht die anderen Faktoren (Temperatur, Luftfeuchtigkeit) beizubehalten, wurden die Pflanzen im Warmhaus verdunkelt, dann injiziert und beobachtet. Waren die Spalten vorher weit und waren keine Tropfen vorhanden, so konnte nach 40 Minuten Schluß und Tropfenbildung festgestellt werden. Zwischen den im Warmhaus und den im Laboratorium verdunkelten Blättern war also kein Unterschied zu finden.

Nach den alten Erfahrungen über die Abhängigkeit der Spaltweite vom Lichtwechsel könnte das Kondensorlicht auf Spalterweiterung hinarbeiten. Nach den Angaben von NICOLIC (1924, S. 331) könnte umgekehrt am Schnitte auch Spaltenverengung eintreten. Es war also noch zu untersuchen, ob in der kurzen Beobachtungszeit, in der das Objekt dem noch stärkeren Kondensorlicht und dem am Mikroskop von oben einfallenden Licht ausgesetzt ist, eine Veränderung in der Spaltweite eintritt.

5. 7. 27. 10 Uhr: Frisches Material: Weite Spalten, ohne Tropfen. Die Blätter wurden mit Wasser injiziert und verdunkelt.

10.20 Uhr: Spalten geschlossen, starke Tropfenbildung. Nun wurde ein Blatt mit der Petrischale unter das Mikroskop gebracht und ebenso stark abgeblendet wie bei den übrigen Versuchen.

Nach 35 Minuten: Noch keine Veränderung eingetreten. Die Spalten bleiben geschlossen und die Tropfen in der üblichen Form und Größe erhalten. Da die Beobachtungszeit nie länger, sondern viel kürzer als die oben angegebene Zeit (35 Minuten) ist, ist eine Beeinflussung des Vorgangs durch das einfallende Licht während des Versuchs nicht zu befürchten.

Treten bei Verdunkelung Tropfen und Spaltenschluß vor der Stärkebildung auf

Um die geringste Stärkeanreicherung feststellen zu können, benutzte ich als Ausgangsmaterial Blätter, die möglichst vollkommen stärkefrei waren. Diese Zustände erreichte ich durch Einstellen der Pflanze unter die feuchte Glocke.

1. 7. 27. 9.25 Uhr: Frisches Material: Spalten weit, keine Tropfen, keine Stärke.

1. a) Schnitt: Verdunkelt.

Nach 10 Minuten: Spalt vollkommen geschlossen, Tropfen vorhanden, keine Stärke.

b) Blatt (injiziert): Verdunkelt.

Nach 10 bis 12 Minuten: Spalt vollkommen geschlossen, Tropfen vorhanden, keine Stärke.

2. Schnitte und injizierte Blätter in Wasser gelegt, nicht verdunkelt.

Nach 25 Minuten: Spalt weit, keine Tropfen, keine Stärke.

Also kann an Schnitten in hellem Licht die Tropfenbildung sehr spät erfolgen. Solches Material hat wohl ARENDS vorgelegen, als er die Wirkung reinen Wassers auf Schnitte prüfte und im Gegensatz zu Salzlösungen keine Entmischung feststellte.

Verdunkelt:

Nach 7 Minuten: a) Schnitt: Spalt geschlossen, Tropfen vorhanden, keine Stärke.

b) Blatt: Spalt geschlossen, Tropfen vorhanden, keine Stärke.

Belichtet: Tropfen gehen zurück, Stärke wird angereichert, Spalt bleibt geschlossen.

Wenn schon in dieser kurzen Zeit (7 Minuten) vollkommener Spaltenschluß eintrat, kann an die Möglichkeit gedacht werden, daß mit Verdunkelung sofort das Schließen einsetzt, zumal ich schon nach kürzerer Zeit langsames Schließen festgestellt habe. STÄLFELT (1927) hat dieselbe Beobachtung gemacht.

Obiger Versuch zeigt weiter, daß bei Spaltenschluß durch Verdunkelung in demselben Blatt, welches schon nach 7 Minuten Entmischung zeigte, nach 30 Minuten noch keine Stärke aufgetreten war. Die Tropfen blieben während der ganzen Zeit der Verdunklung in der ursprünglichen Größe erhalten. Sie gingen erst vom Augenblick der Belichtung an zurück. Zu gleicher Zeit setzte auch Stärkeanreicherung ein, die um so beträchtlicher wurde, je mehr die Tropfenbildung zurückging. Der Spalt blieb geschlossen. Osmotisch wirksame Substanzen waren also nicht mehr in größerer Menge vorhanden.

Zurückgehen der Tropfen im Licht

Die Blätter des Versuchs von S. 242 (5. 7.) wurden weiter beobachtet.

10.55 Uhr: Zustand wie oben (Tropfen vorhanden, Spalten geschlossen). Die Blende wurde vollkommen geöffnet.

11.15 Uhr (nach 20 Minuten): Spalt wie vorher, Tropfen fast nicht mehr zu erkennen.

11.25 Uhr (nach 30 Minuten): Spalt geschlossen, keine Tropfen mehr vorhanden.

12.10 Uhr (nach 55 Minuten): Spalt etwas geöffnet ($\frac{1}{3}$), keine Tropfen.

12.45 Uhr: Spalt wie vorher, keine Tropfen.

Nachdem die Stomata dem Tageslicht ausgesetzt worden waren, gingen die Tropfen innerhalb 30 Minuten bis zur Unkenntlichkeit zurück, ohne daß sich in derselben Zeit der Spalt geöffnet hätte. Osmotisch wirksame Substanz war also nicht mehr vorhanden.

11. 8. Diese Tatsache wurde noch einmal geprüft, aber bei konstantem Licht (elektrisches Licht 32 HK bei 30 cm Abstand). Jetzt wurde auch die Stärkemenge mit berücksichtigt.

9.30 Uhr: Blatt aus dem Warmhaus: Spalten weit, keine Tropfen, keine Stärke. Mit Wasser injiziert. In die Dunkelkammer gebracht.

10.40 Uhr: Spalt geschlossen, Tropfen vorhanden, keine Stärke. Nun beleuchtete ich das Blatt von oben mit der angegebenen Lichtstärke.

11.40 Uhr (nach 1 Stunde): Tropfen verschwunden, Spalt sehr wenig geöffnet, Stärke aufgetreten.

3.15 Uhr: Spalt vollkommen geschlossen, sehr viel Stärke vorhanden. Das geringe Öffnen ist vielleicht auf das Vorhandensein von Resten osmotisch wirksamer Substanz zurückzuführen. Im allgemeinen bleiben die Spalten geschlossen, die Tropfen verschwinden, und es tritt sehr viel Stärke auf.

Tropfenbildung durch Verdunkeln am injizierten und nichtinjizierten Blatt

Es fragt sich noch, ob das Injizieren einen Einfluß auf den Zustand des Zellinhaltes ausübt.

13. 8. 26. 9.45 Uhr. Frische Blätter: Spalten weit, keine Tropfen, keine Stärke.

a) Blätter, mit Wasser injiziert, verdunkelt:

Nach 5 Minuten: Spalten merklich enger geworden, keine Tropfen. Nach 25—30 Minuten: Spalten geschlossen, Tropfen vorhanden.

b) Zweige in die Dunkelkammer eingelegt:

Nach 25 Minuten: Spalten geschlossen, Tropfen vorhanden. Man könnte annehmen, daß die Tropfen durch Welken an der Luft entstanden seien. Das ist aber nicht möglich, da ich nach früheren Beobachtungen unter den hier gegebenen Bedingungen frühestens nach dreistündigem Liegen an der Luft Tropfen erhielt.

c) Das Blatt wurde zuerst in Wasser eingelegt, verdunkelt und dann injiziert: Nach 30 Minuten waren Tropfen erschienen.

Nach 25—30 Minuten traten also überall Tropfen auf. Es war ganz gleich, ob vor oder nach dem Verdunkeln oder ob überhaupt nicht injiziert wurde. Das Injizieren hat also den Zustand des Zellinhaltes nicht beeinflußt. Auch FR. WEBER (1927) gibt an, daß durch die Infiltration (mit Hilfe von Evakuieren) am physikalisch-chemischen Zustand der Schließzellen nichts Wesentliches geändert wird.

Wenn an Schnitten, die in Wasser gelegt werden, immer im Laufe weniger Minuten die Spalten sich schließen, so könnte man daran denken, daß auch die Dämpfung des Lichts dabei mitwirkt. Nach den Erfahrungen an Blättern ist aber die Lichtempfindlichkeit der Spaltöffnungen bei unserem Material nicht so groß.

VI. Tropfenbildung und Stärkeaufbau

Bevor ich auf das Verhältnis zwischen Tropfenbildung und Stärkeaufbau näher eingehe, möchte ich die Ergebnisse einiger Vorversuche zur Stärkefrage angeben.

1. In welcher Zeit wird in den Schließzellen Stärke gebildet?

Ganze Blätter wurden mit 0,25 G. M. Rohrzuckerlösung injiziert, die nach ILJIN (1922) besonders gut geeignet ist, Stärkesynthese herbeizuführen. Die Blätter entnahm ich einer Pflanze, die mehrere Tage unter der feuchten Glocke gestanden hatte. Die Schließzellen waren nicht vollkommen frei von Stärke, enthielten aber äußerst geringe Mengen davon.

Nach der Injektion mit Rohrzuckerlösung (0,25 G. M.) waren die Spalten noch halb geöffnet. Da es sich herausstellte, daß die einzelnen Blätter desselben Sprosses nicht immer gleich reagieren, nahm ich von der Spitze (a) und von mittleren Teilen (b) des Sprosses je einige Blätter ab. Bei beiden Gruppen war nach 30 Minuten noch keine Stärkeanreicherung festzustellen, wohl aber nach 60 Minuten. Allerdings trat bei Blatt b) nur wenig Stärke

auf. Nach zwei Stunden enthielten die Schließzellen beider Blätter größere Stärkemengen.

2. In welcher Zeit wird die Stärke aufgelöst?

FITTING (1915), STEINBERGER (1922), ILJIN (1922), FR. WEBER (1923) und ARENDS (1924) verwandten zur Stärkeauflösung ganz besonders NaCl- und KNO_3 -Lösungen. Darum griff auch ich auf diese Salze zurück.

a) Auflösung in 0,05 G. M. NaCl. — 15. 2. 27. Frisches Material, welches sehr viel Stärke enthielt, wurde in die Lösung eingelegt.

1. Schnitte: nach 24 Stunden: Spalt geöffnet, wenig Stärke vorhanden (mehr als bei 2.).

2. Blatt: nach 24 Stunden: Spalten weit, Stärke fast vollständig aufgelöst.

b) In 0,5 G. M. NaCl. — Da bei 0,05 G. M. NaCl die Stärke erst spät aufgelöst wurde, wandte ich nach Angabe von ARENDS eine Lösung von 0,5 G. M. an, bei der die Lösung am vollkommensten sein soll.

18. 2. 5 Uhr: Eingelegt in 0,5 G. M. NaCl (sehr viel Stärke vorhanden).

21. 2. 1. Schnitte: Noch reichlich Stärke vorhanden.

2. Blatt (inj.): Stärke nur noch in geringer Menge zu sehen.

22. 2. 1. Schnitte: Wenig Stärke.

2. Blatt: Sehr wenig Stärke.

23. 2. Die Stärke hat weiter abgenommen.

Im injizierten Blatt wird die Stärke schneller aufgelöst als in Schnitten. Vergleiche damit die gegenteiligen Angaben von ARENDS (1925, S. 99) und ILJIN, daß in ganzen Blättern und am Sproß (ARENDS) die Stärke nicht aufgelöst wird. MONTFORT (1926, S. 522) konnte jedoch in Blättern eine Auflösung der Stärke feststellen. Die Auflösungsgeschwindigkeit ist bei beiden Konzentrationen im Gegensatz zu den Angaben von ARENDS ungefähr die gleiche.

c) In KNO_3 (0,5 G. M.). — 1. 3. 27, 3 Uhr. Schnitte und Blätter (inj.) in die Salzlösung eingelegt.

Innerhalb von zwei Stunden wurde keine Stärke aufgelöst. Erst nach mehreren Stunden zeigte sich eine Verringerung. Nach drei Tagen war in den meisten Schließzellen des Blattes keine Stärke mehr vorhanden. Vergleiche aber das abweichende Ergebnis S. 249, das wohl durch ändern Zustand des Materials bedingt ist.

3. Hauptversuche

Es ist oben schon (S. 244) festgestellt worden, daß mit der Belichtung die Tropfen verschwinden, die Spalten aber geschlossen bleiben und Stärke in größeren Mengen angereichert wird. Diese Tatsache läßt vermuten, daß die Tropfen mit dem Stärkeaufbau in Beziehung stehen. Bei den weiteren Untersuchungen ließ ich deshalb bei stärkefreiem Material durch Verdunkelung möglichst alle verfügbare Substanz als Tropfen ausfallen und hielt zu diesem Zwecke die Blätter noch länger als bisher (50 Minuten) verdunkelt. Dann setzte ich die Blätter dem Lichte aus und stellte die Spaltweite und vor allen Dingen die Stärkequantität längere Zeit hindurch fest, meist in Abständen von 20 Minuten. Um mich davon zu überzeugen, ob unter dem Einfluß des Lichtes die Tropfen vollkommen zurückgingen und die Tropfensubstanz restlos verschwand, injizierte ich die Blätter mit hypertonischer Kochsalzlösung. Trat Entmischung auf, dann war noch Tropfensubstanz vorhanden, trat keine mehr auf, war sie verschwunden. Für die weiteren Untersuchungen kamen folgende Gesichtspunkte in Betracht: 1. Nach welcher Belichtungszeit geht die Entmischung vollkommen zurück, 2. wann setzt die Stärkeanreicherung ein, 3. wie ist das Verhältnis zwischen dem Zurückgehen der Tropfen und der Stärkeanreicherung und 4. wie verhalten sich die Spalten?

Versuch 1: 21. 7. Frische Blätter mit weiten Spalten wurden für 50 Minuten verdunkelt. Es traten Tropfen auf, die nach dreibis vierstündigem Liegen der Blätter im Licht wieder verschwanden. Beim Injizieren mit 0,8 G. M. NaCl-Lösung konnte Tropfenbildung nicht mehr hervorgerufen werden. Die Spalten waren geschlossen, Stärke in großer Menge vorhanden.

Versuch 2: 22. 7. Spalten weit, nur Spuren von Stärke zu finden. 9.30 Uhr: Injiziert und verdunkelt.

Nach 50 Minuten Verdunkelung ist noch keine Stärkeanreicherung zu bemerken. Sie setzt aber sofort mit der Belichtung ein. Der Spalt öffnet sich ganz unwesentlich.

Nach etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden: Bei Plasmolyse entstehen noch Tropfen.

Versuch 3: 25. 7. Zwei Blätter (inj.) wurden gleich lang (50 Minuten) verdunkelt. Blatt a) wurde dann zwei und Blatt b) $5\frac{1}{2}$ Stunden dem Tageslicht ausgesetzt.

Blatt a): Nach zwei Stunden Belichtungszeit waren bei Plasmolyse Tropfen aufgetreten.

Blatt b): Nach etwa $5\frac{1}{2}$ Stunden Belichtung konnten durch Plasmolyse Tropfen nicht mehr hervorgerufen werden. Es trat sehr viel Stärke auf.

Bei beiden Blättern blieben die Spalten auch während der Belichtung geschlossen.

Die Tabelle 7 zeigt uns besonders das Verhältnis zwischen dem Zurückgehen der Entmischung und der Stärkeanreicherung. Außerdem ist sehr deutlich zu erkennen, daß während der ganzen Zeit der Verdunkelung, bei der sich die Tropfen ausbilden, keine Stärke angereichert wird, sondern erst beim Zurückgehen der Tropfen infolge Belichtung. Siehe besonders Blatt b.

Versuch 4: 2. 8. Blätter aus der Glocke wurden mit Wasser injiziert und verdunkelt.

Blatt a) nach $1\frac{1}{4}$ Stunden ans Licht gebracht, b) bleibt verdunkelt.

Tabelle 7

Zeit	Vers.-Dauer	Plasmol.		Tropfen		Stärke		Spalt	
		a	b	a	b	a	b	a	b
2. 8. 10 ³⁰		—	—	—	—	sehr wenig		$\frac{1}{2}$ — weit	
11 ⁰⁰	n. 30 Min.	—	—	+	+	sehr wenig		geschl.	
11 ⁴⁵	n. $1\frac{1}{4}$ Std.	—	—	+	+	sehr wenig		geschl.	
	a ins Licht								
12 ⁴⁵	n. 1 Stunde	—	—	—	+	viel	s. w.	geschl.	geschl.
3 ³⁰	n. $3\frac{3}{4}$ Std.	NaCl +	—	NaCl —	+	NaCl s. viel	s. w.	NaCl geschl.	geschl.
4 ⁰⁵	n. weiter. 35 Min.	+	—	+	+	viel	s. w.	geschl.	geschl.
4 ¹⁵	b. 5 ⁰⁰ ins Licht	+	—	+	+	viel	s. w.	geschl.	geschl.
5 ⁴⁰	n. 40 Min.	+	i. Licht —	+	i. Licht —	viel	i. Licht viel	geschl.	geschl.
3. 8. 10 ⁰⁰		+	—	+	+	wenig		geschl.	geschl.

Blatt a): Nach 30 Minuten Verdunkelung trat Tropfenbildung auf. Zu ihrer weiteren Ausbildung blieb das Blatt verdunkelt und wurde dann nach etwa $1\frac{1}{4}$ Stunden ans Tageslicht gebracht. Nach einer weiteren Stunde waren Tropfen nicht mehr zu erkennen. Es trat aber viel Stärke auf, und zwar im Verhältnis, wie die Tropfen zurückgingen. Daß nach $3\frac{3}{4}$ Stunden Belichtungszeit keine Tropfen-substanz mehr frei war, geht daraus hervor, daß bei Plasmolyse (mit 0,75 G. M. NaCl) Tropfen nicht mehr ausfielen. Die Stärkeanreicherung war weiter fortgeschritten. Erst nach etwa 35 bis 40 Minuten wurden bei bleibender Plasmolyse Tropfen gebildet. Das kann darauf zurückzuführen sein, daß infolge der Wirkung der eingedrungenen Salze Stärke abgebaut wurde und die be-

treffende Substanz sich wieder zu Tropfen vereinigt hat. Tatsächlich war nach 35—40 Minuten weniger Stärke vorhanden (vgl. oben S. 246). Die Spalten blieben geschlossen.

Blatt b): Die Tropfen behielten bei andauernder Verdunkelung noch nach 6½ Stunden ihre alte Größe und Form. Die Stärkemenge blieb konstant (sehr wenig). Erst nach fünf Stunden fand eine sehr geringe Anreicherung statt, die ich in der Tabelle nicht vermerkt habe. Brachte ich das Blatt ins Licht, dann verschwanden die Tropfen innerhalb 40 Minuten. Mit der Belichtung setzte auch sofort Stärkeanreicherung ein. Die Spalten blieben geschlossen.

Der Übersicht halber stelle ich noch einmal die Ergebnisse der letzten Versuche in einer Tabelle zusammen und gebe die Verhältnisse an, wie sie sich nach der Behandlung mit hypertotonischer Kochsalzlösung ergeben.

Tabelle 8.

Versuch	Zeit der Belichtg.	Pl. (NaCl)	Tropfen	Stärke
2	1½ Std.	+	+	viel
3a	2 „	+	+	viel
1	3—4 „	+	—	sehr viel
4a	3¾ „	+	—	sehr viel
3b	5½ „	+	—	sehr viel

Die auf die Verdunkelung hin entstandenen Tropfen gingen nach etwa dreistündiger Belichtung vollkommen zurück und waren durch Plasmolyse nicht mehr hervorzurufen. Während der ganzen Zeit der Verdunkelung (6½ Stunden) behielten die Tropfen ihre ursprüngliche Größe bei, eine wesentliche Stärkeanreicherung fand nicht statt. Vom Zeitpunkt der Belichtung ab gingen die Tropfen zurück, die Stärkemenge nahm zu und war nach drei Stunden sehr groß geworden. Es ist offensichtlich, daß große Stärkequantität Entmischung ausschließt.

Anders war es bei langfristiger Verdunkelung. Wurde eine Pflanze im feuchten Warmhaus nachmittags um 2 Uhr verdunkelt und die Verdunkelung über Nacht beibehalten, dann bildete sich schon im Laufe des Abends Stärke, und ihre Menge war bis zum andern Morgen sehr groß geworden. Die anfangs bei Verdunkelung gebildeten Tropfen gingen bis gegen 11 Uhr des andern Morgens vollkommen zurück. Am Vormittag zeigte sich auch ein teilweises Öffnen der Spalten.

Im Experiment bleiben also bei kurzfristiger Verdunkelung die Tropfen erhalten, ohne daß Stärke auftritt, während bei lang-

dauernder Verdunkelung die Tropfen wieder verschwinden und Stärke angereichert wird.

Unter den Bedingungen des natürlichen Lichtwechsels im Gewächshaus erscheinen bei eintretender Dämmerung gleichzeitig mit der Spaltenverengung ebenfalls zuerst Tropfen, die langsam wieder verschwinden. Dabei tritt Stärke auf. Morgens 6 Uhr waren im Sommer die Spalten schon etwas geöffnet, und die Schließzellen führten noch ziemlich viel Stärke, aber keine Tropfen.

Ist die Stärke infolge der Einwirkung von NaCl einmal aufgelöst, so ruft Verdunkelung weder Spaltenschluß, noch Stärke, noch Tropfenbildung hervor.

Nach den mitgeteilten Erfahrungen ist anzunehmen, daß die Tropfensubstanz zum Stärkeaufbau verwandt wird. Eine sichere Entscheidung dieser Frage ist erst durch die Ermittlung der chemischen Natur der Tropfen zu erreichen. Es wäre etwa an Dextrine zu denken (vgl. MOLISCH 1921). ARENDS glaubt gefunden zu haben, daß sie bei *Tradesc. zebrina* Gerbstoffe enthalten, doch ist die Identifizierung nicht sicher geglückt. Eigene Untersuchungen habe ich vorläufig über diesen Punkt nicht angestellt.

VII. Tropfenbildung und osmotischer Wert

Wenn durch Wasserentzug Tropfenbildung und gleichzeitig Spaltenschluß veranlaßt werden, so könnte man auch glauben, daß nicht die Tropfenbildung, sondern primär die Verringerung des Wanddrucks für den Spaltenschluß verantwortlich zu machen ist. Aus dem Verhalten von Schnitten in Wasser und noch sicherer aus der Reaktion ganzer Blätter auf Verdunkelung ist jedoch klar zu erkennen, daß die Spalten sich mit einsetzender Tropfenbildung bei voller Wassersättigung der Gewebe zu schließen beginnen. Hier wird also die Entmischung mindestens eine Ursache des Spaltenschlusses sein. Vermutlich wird durch die Verdunkelung auf dem Weg einer Reizwirkung primär der Zustand des Plasmas und von diesem aus sekundär auch der Zustand des Zellsaftes so verändert, daß es zu der tropfigen Entmischung kommt. Durch die Tropfenbildung wird der osmotische Wert des Zellsaftes herabgesetzt, und die Folge davon ist Austritt von Wasser aus der Vakuole, so daß sich in ganz kurzer Zeit die Spalten schließen. Die osmotisch wirksamen Substanzen, die bei diesem Vorgang der Katatonose inaktiviert werden, sind die Stoffe, welche ich als freie Tropfensubstanz bezeichnet habe, die inaktive Phase wird durch die Tropfen selbst dargestellt. — STEINBERGER (1922) hat bei Spaltenschluß

durch Verdunkelung schon nach 15 Minuten tatsächlich eine Herabsetzung des osmotischen Wertes festgestellt, und zwar von 1,5 G. M. auf 0,3 G. M. KNO_3 . In dieser Zeit hat sie selbst auch nie bedeutende Stärkeanreicherung beobachten können, die den osmotischen Wert derart beeinträchtigen konnte. Tropfen hat sie jedoch nicht gesehen, wie ja überhaupt von ARENDS niemand darauf geachtet hat.

Werden die verdunkelten Schließzellen dem Einfluß des Lichtes ausgesetzt, so verschwinden die Tropfen nach und nach, und in demselben Verhältnis, wie sie zurückgehen, wird sofort Stärke angereichert, während die Spalten geschlossen bleiben. Wenn der referierte Befund von Frau STEINBERGER verallgemeinert werden darf, wird der osmotische Wert des Zellsaftes bei der Überführung der Tropfen in Stärke nicht wesentlich weiter herabgesetzt.

Überlassen wir die Schließzellen (in Wasser) nun sich selbst, so reagieren sie ganz normal in der üblichen Tagesperiode weiter, wenn sie sich erholt haben. Dieser Fall tritt auch nach Verwundung des Blattes ein, sofern die Schließzellen noch intakt sind. Dagegen öffnen sich an *Schnitten*, die in reinem Wasser liegen, die Spalten wie bekannt nie wieder. Nach Wasserentzug und Farbstoffeinwirkung (Neutralrot) öffnen sich die Spalten ebenfalls wieder, wenn durch Einlegung der Blätter in Wasser der hemmende Faktor beseitigt ist. Selbstverständlich dürfen die Schließzellen nicht durch zu starke Farblösung geschädigt worden sein.

Wir dürfen also annehmen, daß der osmotische Wert durch die Tropfenbildung herabgesetzt wird. Tatsächlich tritt schon an Schnitten in Wasser in kürzester Zeit eine Herabsetzung ein, ohne daß der Wasserentzug durch Plasmolytika die Ursache zu sein braucht. So ist es also erst recht zu verstehen, wenn STEINBERGER (1922, S. 407) bei der Anwendung von Rohrzuckerlösung schon in der Zeit von zehn Minuten (zwischen der 5. und der 15. Minute von der Anfertigung des Schnittes an gemessen) eine Herabsetzung des osmotischen Wertes von 0,60 G. M. auf 0,20 G. M. feststellen konnte. Entgegen den Zweifeln von URSPRUNG und BLUM (1924, S. 24) scheint also die Deutung, die Frau STEINBERGER ihrem Versuchsergebnis gegeben hat, im Prinzip doch richtig zu sein.

Wird der osmotische Wert wie üblich an Schnitten bestimmt, so müssen Fehler entstehen, wenn der plasmolytische Grenzwert erst nach Beginn oder gar nach Vollendung der Tropfenbildung ermittelt wird.

Es fragt sich noch, wie sich die Spalten ganzer Blätter gegenüber den Plasmolytika verhalten, nämlich bei welchen Konzentrationen (ob bei der grenzplasmolytischen, oder darüber oder darunter) und zu welcher Zeit die Tropfen erscheinen.

Unter diesem Gesichtspunkte wurden noch einige Versuche mit ganzen Blättern gemacht, die alle zu denselben Resultaten führten. Ich greife zwei Versuche heraus und teile die gefundenen Ergebnisse hier mit.

18. 7. 27. 10 Uhr bzw. 11.30 Uhr.

Frisches Material aus der Glocke: Spalten weit geöffnet, keine Tropfen vorhanden.

Tabelle 9a

NaCl	0,65			0,70			0,75			0,80			0,85		
	10 ⁰⁰ Uhr	Sp.	Tr.	Pl.	Sp.	Tr.	Pl.	Sp.	Tr.	Pl.	Sp.	Tr.	Pl.	Sp.	Tr.
nach 3 Min.	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	^{1/2} g.	+	—	g.	+	—
„ 20 „	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	g.	+	—	g.	+	+
„ 30 „	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	g.	+	—	g.	+	+
„ 40 „	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	g.	+	—	g.	+	+

Tabelle 9b

11 ³⁰ Uhr															
nach ± 3 Min.	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	w.	—	—	g.	+	—
„ 20 „	^{1/2} g.	—	—	g.	+	Gr.+	g.	+	+	g.	+	+	g.	+	+
„ 25 „	g.	+	—	g.	+	Gr.+	g.	+	+	g.	+	+	g.	+	+
„ 30 „	g.	+	—	g.	+	Gr.+	g.	+	+	g.	+	+	g.	+	+
„ 40 „	g.	+	—	g.	+	Gr.+	g.	+	+	g.	+	+	g.	+	+

Salzkonzentrationen, in denen nach 20 Minuten Plasmolyse eintritt, erzeugen unter allen Umständen Tropfen, und zwar schon nach ganz wenigen Minuten, lange vor der Plasmolyse. In Versuch a traten Tropfen bei 0,80 G. M. auf, in einer Lösung, die sonst nach 40 Minuten plasmolysiert. In Versuch b entstehen Tropfen schon in der Konzentration von 0,65 G. M., die auch nach 40 Minuten nicht plasmolysiert. (Vergleiche damit die Ergebnisse auf Seite 233, wonach Plasmolyse von 0,3 G. M. ab, und auf Seite 230, wonach sie schon in einer Lösung von 0,1 G. M. NaCl eintritt. Die abweichenden Ergebnisse sind auf die Verschiedenheit des Materials zurückzuführen.) Die Grenzplasmolyse hat sich also ohne Zellsaftentmischung gar nicht beobachten lassen, und so sind die ermittelten Grenzwerte zu den für die Beobachtung gewählten Zeiten wahrscheinlich immer zu niedrig. Ob es überhaupt möglich

ist, einen früheren Zeitpunkt zu finden, in dem vorübergehend Gleichgewicht zwischen Zellsaft und Außenlösung herrscht, ohne daß schon Tropfen ausgefallen sind, erscheint fraglich.

VIII. Andere Objekte als *Tradescantia zebrina*

Zum Schluß möchte ich noch besonders darauf hinweisen, daß alle Ergebnisse, die ich gefunden habe, sich nur auf *Tradescantia zebrina* beziehen. Wohl habe ich auch bei andern Pflanzen versucht, durch Verdunkelung Tropfenbildung hervorzurufen, jedoch mit negativem Erfolg. An Schnitten konnte ich allerdings bei mehreren Pflanzen Tropfen wahrnehmen, z. B. bei *Epimedium*, *Sansevieria*, *Paeonia*, *Allium schoenoprasum*, *Impatiens fulva* und *Tamarindus*. Es wird späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob die gefundenen Resultate verallgemeinert werden dürfen. Außerdem ist es gelungen, bei der saccharophyllen *Allium cepa* sowohl an Schnitten als auch an ganzen Blättern mit Neutralrot (1 : 2000) Tropfen zu erzeugen. Somit dürfte an die Wahrscheinlichkeit gedacht werden, daß auch bei dieser Pflanze tropfige Entmischung die Ursache des Spaltenschlusses ist. Ohne Farbstoff sind die Tropfen hier sehr schwer zu sehen, und ob Verdunkelung Entmischung herbeiführt, konnte deshalb leider nicht entschieden werden.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

An *Flächenschnitten* von Blättern der *Tradescantia zebrina* treten im Zellsafte der Schließzellen, vermutlich durch die Einwirkung von Stoffen, die aus den verletzten Zellen austreten, in wenigen Minuten stark lichtbrechende Tropfen auf, wie sie AREND'S zuerst beschrieben hat. Sie wachsen rasch, können auch ihre Gestalt verändern, werden nach etwa einer Stunde undeutlich und verschwinden dann.

Gleichzeitig mit dem Entstehen der Tropfen schließen sich die vorher geöffneten Spalten.

In Lösungen von NaCl, KNO₃, Gips und Rohrzucker ist die Tropfenbildung vielleicht noch begünstigt.

Die in Wasser entstandenen Tropfen lassen sich nach ihrem Verschwinden durch Salzlösung, die in NaCl-Lösung erzeugten durch höhere Konzentrationen derselben Lösung oder durch Rohrzuckerlösung wieder hervorrufen.

In *ganzen Blättern* ist diese tropfige Entmischung durch Injektion mit reinem Wasser nicht zu erzielen, wohl aber, und zwar wieder in Verbindung mit Spaltenschluß,

1. *durch Verwundung*;

2. *durch Wasserentzug* nämlich beim Welken an der Luft, oder durch Plasmolyse, d. h. Injektion des Blattes mit plasmolysierender Lösung, genügend zur Hervorrufung der Tropfen ist die plasmolytische Grenzkonzentration. Wie weit eine chemische Wirkung eindringender Salze mit beteiligt ist, konnte nicht festgestellt werden.

3. *durch Neutralrot* (in Lösung von 1 : 50 000, ebenfalls injiziert); die durch Neutralrot erzeugten Tropfen zeigen das gleiche Aussehen und Verhalten wie die auf andere Art entstandenen. Außerdem können z. B. an Schnitten in Wasser erzeugte Tropfen nachträglich durch Neutralrot gefärbt werden; somit ist die Grundsubstanz der LINSBAUERSCHEN „Farbstoffkugeln“ mit den ARENDSSCHEN „Gerbstofftropfen“ identisch.

4. *durch Verdunkelung*. Mit der Tropfenbildung schließt sich der Spalt und ist nach kurzer Zeit (7 Minuten) vollständig geschlossen. Auch der durch Verdunkelung hervorgerufene Spaltenschluß geht Hand in Hand mit Tropfenbildung in den Schließzellen, und zwar auch der normale abendliche Spaltenschluß im Gewächshaus. Bei kurzfristiger Verdunkelung bleiben die Tropfen erhalten, ohne daß eine wesentliche Stärkeanreicherung stattfindet. Sobald dagegen solche Blätter ins Licht gebracht werden, geht die Entmischung zurück, und in demselben Verhältnis, wie die Tropfen verschwinden, erscheint Stärke, so daß die Spalten geschlossen bleiben. Bei langfristiger Verdunkelung, z. B. während der Nacht, geht jedoch die Tropfenbildung allmählich wieder zurück, und es tritt Stärke auf.

Vermutlich stellen die Tropfen eine osmotisch kaum mehr wirksame Form der Kohlehydrate in den Schließzellen dar, und damit ein Übergangsprodukt bei der Bildung von Stärke.

Die Entmischung bedeutet augenscheinlich eine aktive Herabsetzung des osmotischen Wertes, und da sie früher eintritt, als die plasmolytische Grenzkonzentration sich bestimmen läßt, erscheint bei unserem Objekt eine exakte Bestimmung dieser Konzentration bei geöffneten Spalten so gut wie unmöglich.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden vom Sommer-Semester 1926 bis zum Winter-Semester 1927/28 im botanischen Institut der Universität Jena ausgeführt. Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. RENNER, bin

ich für die Anregung zu dieser Arbeit und ihre wohlwollende Förderung zu größtem Danke verpflichtet.

Abstract

On surface sections of the leaves of *Tradescantia zebrina*, in the cell sap of the guard cells, there appear within a few minutes strongly light-refracting drops, firstly described by ARENDS, which are probably caused by substances overflowing from the injured cells. They grow quickly, can also change their shape, and in about one hour they become indistinct and finally disappear.

The stomates which were open before, are closing simultaneously with the appearance of the drops.

In a solution of NaCl, KNO₃, sulphate of lime or cane-sugar, the formation of drops is even favoured.

The drops arisen in water, after their disappearance, may be recalled by a salt solution, those produced in NaCl-solution by a higher concentration of the same solution or by cane-sugar solutions.

It is not possible to produce this dropping dissociation in whole leaves by injection with pure water, but it may appear again in conjunction with the closing of the stomates:

1. by wounding.

2. By loss of water in wilting in the air, or by plasmolyse, injection of the leaf with plasmolysing solution; sufficient for the production of the drops is the plasmolytical threshold concentration. It has not been possible to discern, how far a chemical influence of penetrating salts is taking part.

3. By neutral red (in a solution of 1 : 50000 likewise injected). The drops produced by neutral red show the same appearance and reaction as those arisen in another way. Besides it is possible to colour afterwards with neutral red, drops, produced on sections in water. Therefore the ground substance of LINSBAUER's „colour-substance balls“ is identical with AREND's „tanning substance drops“.

4. By referring to the dark. After the formation of drops the stomates are closing, and in a short time (7 minutes) are completely closed. The closing of the stomates, caused by the darkening, also goes parallel with a formation of drops in the guard cells, even when the stomates are normally closing in the evening in the conservatory. If they are only a short time in the dark, the drops are preserved without a noticeable increase of the starch. As soon, however, these leaves are exposed to light, the dissociation declines, and in the same relation as the drops vanish, there appears starch, so that the stomates remain closed. In long darkness, e. g. during the night, the formation of drops ceases gradually while starch is being formed.

Probably the drops represent a form of the carbohydrates, osmotically hardly effective in the guard cells, and therefore a transition product in the formation of starch.

The dissociation evidently indicates an active reduction of the osmotical value and as it appears never earlier than until the plasmolytical threshold concentration can be determined, an exact determination of this concentration in opened stomates on our subject seems to be impossible.

Zitierte Literatur

1. ARENDS, J.: Über den Einfluß chemischer Agenzien auf Stärkegehalt und osmotischen Wert der Spaltöffnungsschließzellen. *Planta* **1**, 1925, S. 84—115.
- 2. FITTING, H.: Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. *Pringsh. Jahrb.* **56**, 1915, S. 17.
- 3. HEINRICHER, E.: Verwendbarkeit des Eau de Javelle zum Nachweis kleinster Stärkemengen. *Ztschr. f. wiss. Mikroskopie und für mikr. Technik* **III**, 1886, S. 213—215.
- 4. ILJIN, W. S.: Wirkung der Kationen von Salzen auf den Zerfall und die Bildung von Stärke in der Pflanze. 1. Mitt. *Biochem. Ztschr.* **132**, 1922, S. 494—510.
- 5. KISSELEW, N.: Veränderung der Durchlässigkeit des Protoplasma der Schließzellen im Zusammenhang mit stomatären Bewegungen. *Beih. z. Bot. Zentralbl.* **41**, 1924/25, S. 287—308.
- 6. KÜSTER, E.: Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. *Protoplasma* **1**, 1926.
- 7. LEITGEB, H.: Beiträge zur Physiologie der Spaltöffnungsapparate. *Mitt. a. d. bot. Inst. Graz* **1**, 1888.
- 8. LINSBAUER, K.: Beobachtungen an Spaltöffnungen. *Planta* **2**, 1926, S. 530 bis 536.
- 9. LINSBAUER, K.: Weitere Beobachtungen an Spaltöffnungen. *Planta* **3**, 1927, S. 527—561.
- 10. MOLISCH, H.: Sitzungsbericht der Akademie Wien. *Mathem. - Nat. Kl. Abt. I.* **127**, 1918.
- 11. MOLISCH, H.: Über den Einfluß der Transpiration auf das Verschwinden von Stärke in den Blättern. *Ber. d. D. Bot. Ges.* 1921, S. 339.
- 12. MONTFORT, C.: Physiologische und pflanzengeogr. Seesalzwirkungen. I. *Pringsh. Jahrb.* **65**, 1926, S. 502—550.
- 13. NICOLIC, M.: Beiträge zur Physiologie der Spaltöffnungsbewegungen. *Beih. z. Bot. Zentralbl.* **41**, 1924, S. 309—346.
- 14. PFEFFER, W.: *Tübinger Untersuchungen* **2**, 1886—88.
- 15. SCARTH, G. W.: The mechanism of accumulation of dyes by living cells. *Plant Physiology* **1**, 1926, S. 215—239.
- 16. SCHAEDE, R.: Über die Reaktion des lebenden Plasmas. *Ber. d. D. Bot. Gesellsch.* **42**, 1924, S. 219—224.
- 17. STÄLFELT, M. G.: Die photischen Reaktionen im Spaltöffnungsmechanismus. *Flora* **121**, 1927, S. 236—272.
- 18. STEINBERGER, A. L.: Über Regulation des osmotischen Wertes in den Schließzellen von Luft- und Wasserspalten. *Biol. Zentralbl.* **42**, 1922, S. 405 bis 419.
- 19. URSPRUNG, A., und BLUM, G.: Eine Methode zur Messung des Wand- und Turgordruckes der Zelle, nebst Anwendungen. *Pringsh. Jahrb.* **63**, 1924, S. 1—110.
- 20. WEBER, Fr.: Enzymatische Regulation der Spaltöffnungsbewegung. *Naturw.* 1923, S. 309—316.
- 21. WEBER, Fr.: Plasmolyseform und Kernform funktionierender Schließzellen. *Pringsh. Jahrb.* **64**, 1925, S. 687—700.
- 22. WEBER, Fr.: Vitale Blatinfiltration. *Protoplasma* **1**, 1927, S. 581—588.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1929

Band/Volume: [26](#)

Autor(en)/Author(s): Beyer Albert Friedrich

Artikel/Article: [Über Tropfenbildung in den Schließzellen der Spaltöffnungen von Tradescantia zebrina 224-256](#)