©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Zur protoplasmatischen Anatomie des Blattes von *Halophila stipulacea*

Von

Themistokles DIANNELIDIS

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Thessaloniki)

Mit 1 Abbildung und 1 Tabelle

Eingelangt am 23. Oktober 1950

Seit der Begründung der protoplasmatischen Pflanzenanatomie (WEBER 1929) haben protoplasmatische und zellphysiologische Untersuchungen auf diesem Gebiete eine mächtige Entwicklung genommen. Doch wenn man die betreffende Literatur überblickt, merkt man, daß die Zahl der untersuchten Pflanzen gering ist. Zu den beliebtesten Versuchsobjekten der protoplasmatischen Pflanzenforschung gehört *Helodea canadensis*, bzw. *Helodea densa*. Der anatomische Bau ermöglicht die mikroskopische Betrachtung des intakten Blattes ohne Schnittverletzungen. So ist es verständlich, daß *Helodea* für viele Arbeiten bevorzugt wurde; auf Grund dieser Untersuchungen sind verschiedene Probleme der Zellphysiologie und Protoplasmaforschung — Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit der Zellen, protoplasmatische Unterscheidung differenter Zellzustände, Differenzierung der protoplasmatischen Eigenschaften im Laufe der Entwicklung usw. — aufgedeckt und erörtert worden.

In *Halophila stipulacea* habe ich eine gleich günstige Versuchspflanze für protoplasmatische Untersuchungen gefunden. Die vorliegenden zellphysiologischen Studien an dem Blatt von *Halophila stipulacea* gewinnen an Interesse, da es, anatomisch betrachtet, ähnlich wie das *Helodea*-Blatt gebaut ist. *Halophila* wird zum erstenmal für solche Versuche herangezogen und stellt wegen der anderen, marinen Lebensverhältnisse ein interessantes Objekt für vergleichende Untersuchungen dar.

Die Versuchspflanze.

Halophila stipulacea, heimisch im Indischen Ozean, wurde wahrscheinlich nach dem Bau des Suezkanals ins Mittelmeer verschleppt. Sie wurde zum erstenmal in griechischen Meeren 1923 gefunden (POLITIS, 1930). Sie wächst in einer Tiefe von 8—12 m.

Die Blätter von *Halophila* sind hyalin durchsichtig, was die mikroskopische Betrachtung ohne Schnitte ermöglicht. Die Blattspreite, abgesehen von der Rippenzone, besteht aus zwei Zellschichten, den Epider-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

miszellen; sie enthalten reichlich Chloroplasten und funktionieren gleichzeitig als Assimilationszellen. Der Blattrand wird von Zellen eingenommen, die sich durch ihre Membrandicke, ihre Längsstreckung und durch den Besitz verhältnismäßig weniger und schwach grün gefärbter Plastiden von den Assimilations-Epidermiszellen unterscheiden. Längs des Blattrandes finden sich in bestimmten Abständen einzellige Trichome „Blattzähne" [1]). Die Epidermiszellen der Mittelrippe sind im Vergleich zu den sie flankierenden Zellen langgestreckt und schmäler. Die Zellen des Blattstieles sind groß und stärker gestreckt als die übrigen Zellen des Blattes und enthalten nur wenige blaßgrüne Plastiden. Der Zellsaft der Mittelrippenzellen ist manchmal durch Anthozyan gefärbt. Man merkt keinen Unterschied zwischen Blattober- und -unterseite. Genau wie bei *Helodea* findet man an älteren Blättern von *Halophila* häufig vereinzelte Zellen oder Zellgruppen, die durch braune Färbung der Zellmembranen und des Zellinhaltes als „nekrotische" Herde zu erkennen sind.

Das Material stammte aus Rhodos. Jedesmal wurden frische Pflanzen aus einer Tiefe von 8—10 m von einer Stelle gerade vor dem Eingang des Handelshafens von Rhodos knapp vor dem Versuch eingeholt. Wenn Pflanzen im Laboratorium [2]) aufbewahrt wurden, geschah es nie länger als für 48 Stunden in einem Glasaquarium im Halbdunkel, um die Wirkung des Lichtes auszuschalten, da die Pflanze normal in schwachem Licht lebt.

Unter dem Einfluß intensiver Belichtung und gleich nach dem Herausbringen der Pflanze aus der Meerestiefe kommt es in den Zellen von *Halophila* zur Systrophe: Die Chloroplasten und ein Teil des Zytoplasmas sammeln sich um den Zellkern. Der ganze Inhalt der Zelle ballt sich an einer Stelle als Plasmakugel zusammen. Nach kürzerer oder längerer Zeit und bei schwachem Licht im Aquarium geht die Systrophe zurück [3]).

Ich habe immer darauf geachtet, möglichst gleich alte Blätter zu verwenden, um Unterschiede im protoplasmatischen Verhalten wegen

---

[1]) Im folgenden verwende ich die für das *Helodea*-Blatt eingeführten Ausdrücke „Mittelrippe, Blattbasis, Blattrand, Blattzähne und Blattfeld" (s. MODER 1932).

[2]) Die Untersuchungen in Rhodos führte ich in der Station des Griechischen Hydrobiologischen Institutes durch.

[3]) Die Lichtsystrophe in den *Halophila*zellen geht im Vergleich zu der von *Helodea* (KÜSTER 1929: 76), wo sie nach mehrstündiger Insolation (Höhenlicht in Davos) eintritt, sehr rasch vor sich. Außerdem erscheint bei *Halophila* nicht die für *Helodea* charakteristische gegenseitige Einstellung der Plasmakugeln in den Nachbarzellen. Die Systrophe bei *Halophila* ist eine reversible pathologische Veränderung des Zellzustandes (vergl. MODER 1932 und WEBER 1925).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Altersveränderungen zu vermeiden. Die Blätter wurden immer kurz vor dem Versuch abgeschnitten und in verschließbare Gläschen mit Untersuchungsflüssigkeiten (Plasmolyticum usw.) gebracht; zur mikroskopischen Untersuchung kamen die Blätter auf den Objektträger und dann wieder in das Gläschen mit der Flüssigkeit zurück.

Zur Herstellung der Versuchslösungen verwendete ich — wo nichts anderes erwähnt wird — reines Seewasser, das aus dem freien Meer geschöpft wurde. Für die Seewasserkonzentrationen wurde das Wasser filtriert und ein genau bestimmtes Volumen bei 60° C in Jenaer Gläsern im Wasserbad auf ein Drittel oder die Hälfte des Volumens, also auf die zwei- oder dreifache Konzentration, eingeengt. Niedrigere Konzentrationen erhielt ich daraus durch entsprechenden Zusatz normalen Seewassers. Für die Permeabilitätsversuche mit Harnstoff wurde der Harnstoff in Meßkolben eingewogen und mit Seewasser volumnormal aufgefüllt. Ebenso erfolgte die Herstellung der Glukose-, Kaliumchlorid-, Kalziumchlorid- und Glyzerinlösungen. Die hypotonische Kalium- und Kalziumchloridlösungen wurden in Süßwasser (Leitungswasser) hergestellt.

Plasmolyseform, -ort und -zeit

Die Plasmolyse beginnt bei *Halophila* stets sofort an den Randzellen. Der positive Plasmolyseort ist der Außenseite, d. h. dem Rand der Spreite, zugekehrt. Der Protoplast wird von dieser Seite der Zellwand eingebuchtet, so daß eine konkave Plasmolyseform entsteht. In manchen Fällen habe ich Faltenplasmolyse beobachtet. Kurz nachher tritt die Plasmolyse in den Zähnen ein. Sie beginnt in Konvex- oder Konkavform; im letzten Fall geht sie schnell in die Konvexform über. Die positiven Plasmolyseorte in den Blattzähnen sind meistens der Zahnspitze zugekehrt, und zwar unabhängig vom Entwicklungsstadium des Zahnes (Fig. 1 a—d). 20 Minuten nach dem Einlegen des Materials ins Plasmolytikum werden die Feldzellen plasmolysiert; ihre Plasmolyseform ist verschieden, konkav oder konvex. Der Protoplast hebt sich von den seitlichen oder den der Spitze oder der Basis zugekehrten Wänden ab. Nur im Fall der Plasmolyse durch Glyzerin wird der Protoplast von der Oberseite, d. h. direkt unter der Fläche der Blattlamina, abgelöst. In ziemlich starken Konzentrationen plasmolysieren die Rippenzellen verschieden, konkav oder konvex.

Die Plasmolyse beginnt in den langgestreckten schmalen Zellen des Blattstieles konvex und bleibt unverändert; in selteneren Fällen fängt sie konkav an. Charakteristisch ist die Teilung des Protoplasten dieser Zellen nach Behandlung mit Kalziumchloridlösung. Die Teilprotoplasten bleiben durch Plasmabänder oder -fäden verbunden. Die Chloroplasten lagern sich rings um die Teilprotoplasten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

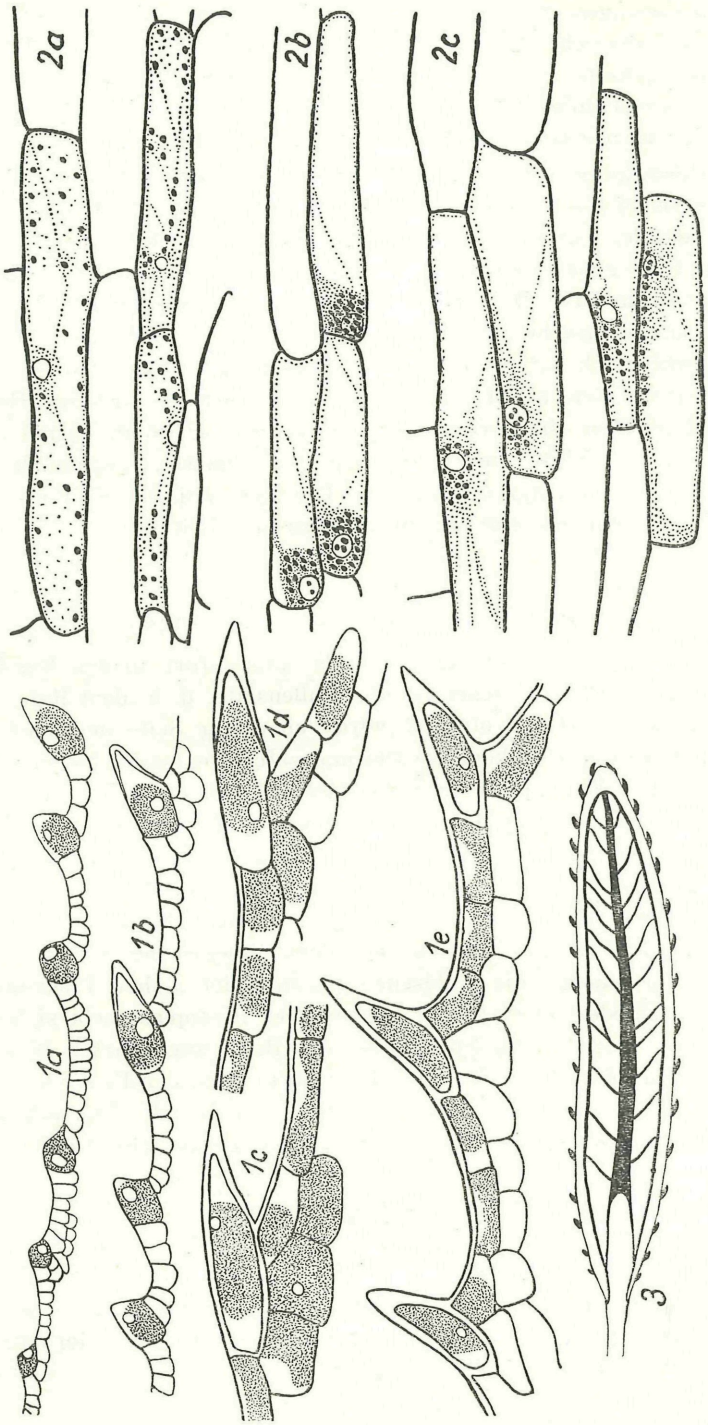

Abb. 1, Fig. 1—3. *Halophila stipulacea.*
Erläuterung siehe Seite 33 unten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Wenn wir nun das ganze Blatt betrachten, so läßt sich sagen: Es beginnt die Plasmolyse in den Randzellen und den Zähnen und schreitet langsam vor zu den Feldzellen und zuletzt (in stärkeren Konzentrationen) in die Rippenzellen.

Die Befunde über den positiven Plasmolyseort in den Blattzähnen von *Halophila* stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen RUGES, 1940. Nach RUGE fällt „die Lage des positiven Plasmolyseortes der Blattzähne von *Helodea densa* in allen deren Entwicklungsstadien — im Gegensatz zu den nicht differenzierten Randzellen — mit der Grundmembran zusammen". Für meine Pflanze besteht noch bei schwachen Konzentrationen kein Unterschied zwischen nicht differenzierten Randzellen — bei denen der negative Plasmolyseort auch an der Grundmembran liegt — und Blattzähnen der verschiedenen Entwicklungsstadien. Wenn also bei *Helodea densa* in den Randzellen der „meristematischen" Zone des Blattes „ein drastisches Beispiel" (RUGE) für eine „physiologische Verschiedenheit bei morphologischer Gleichheit" (WEBER 1925, 1932) vorliegt, tritt beim *Halophila*-Blatt für den Plasmolyseort kein solcher ausgeprägter Unterschied auf. Im Fall von *Halophila* findet man auch keinen Zusammenhang des negativen Plasmolyseortes mit der wachsenden Membran (RUGE 1940, vergl. auch WEBER 1931, GRATZY und WEBER 1931, CHOLNOKY 1931, ALDABA 1927 u. a.). In den älteren Stadien der Blattzähne beginnt die Abhebung des Protoplasmas von der Membran der schmäleren Seite der Zelle (Zahnspitze, dicke Membran), wo trotz der Form des Zellraumes, der Protoplast rascher abgerundet wird. Das darf man mit einer schwächeren Kohäsion des Plasmas an der Wand der Spitzenseite oder durch ungleich starken und schnellen Zutritt des Plasmolyticums zu dieser Seite der Zelle erklären. Für die erste Möglichkeit sprechen auch die Zentrifugierungsversuche (weiter unten). Nach Schleuderung (Tourenzahl 5000 Umdrehungen in der Minute) ließ sich nach einer Zentrifugierungsdauer von 30 Minuten in vielen Zellen des Randes eine Ablösung des Protoplasten von der äußeren Wandzelle feststellen und in den Zähnen vielmals von der Spitzenseite.

Fig. 1. Plasmolyse-Form und -Ort in Zähnen verschiedener Entwicklungsstadien eines und desselben jungen Blattes von *Halophila stipulacea* bei gleichem Plasmolysegrad zu Beginn der Plasmolyse in Seewasserkonzentration 1,40.

Fig. 2. Stielzellen. Verlauf der Rückverlagerung nach Zentrifugierung. a intakte Zellen, b Zellen nach Zentrifugierung, c Zellen mit Rückverlagerung des Inhaltes.

Fig. 3. Schematische Darstellung eines mit Neutralrot gefärbten *Halophila*-Blattes. Die schwarzen Stellen zeigen die Teile des Blattes, die eine diffuse Färbung des Zellsaftes aufweisen (Zähne, Rippenzellen).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Osmotischer Wert

Der osmotische Wert wurde in Seewasserkonzentrationen bestimmt. Die Ergebnisse dieser Versuche bringt Tabelle 1.

Tabelle 1. Osmotischer Wert

Basis					Mitte				Spitze			
Stielzellen	Randzellen	Blattzähne	Feldzellen	Mittelrippe-zellen	Randzellen	Blattzähne	Feldzellen	Mittelrippe-zellen	Randzellen	Blattzähne	Feldzellen	Mittelrippe-zellen
Junges Blatt												
1,45	1,30	1,40	1,50	1,70	1,30	1,35	1,50	1,65	1,30	1,35	1,50	1,65
Mittelgroßes Blatt												
1,45	1,30	1,35	1,50	1,65	1,30	1,35	1,50	1,60	1,30	1,35	1,50	1,60
Ausgewachsenes Blatt												
1,45	1,30	1,35	1,50	1,60	1,30	1,35	1,50	1,60	1,30	1,35	1,50	1,60

Nach den Angaben der Tabelle lassen sich osmotisch die Zellen des Blattstieles, die Randzellen die Blattzähne, die Feldzellen und die Rippenzellen unterscheiden. Die Randzellen zeigen den niedersten osmotischen Wert, mit kleinen Schwankungen für die verschiedenen Zonen des Blattes. Den höchsten osmotischen Wert zeigen die Rippenzellen, besonders die Mittelrippenzellen. Die früheren Entwicklungsstadien der Blattzähne (Basis) zeigen einen nur wenig höheren osmotischen Wert gegenüber den älteren Stadien.

Bei Vergleich der osmotischen Verhältnisse der *Halophila*-Blattzellen mit den Angaben über Longitudinalgradienten in der Blattlamina des ähnlich gebauten *Helodea*-Blattes findet sich keine Übereinstimmung. Moder 1932 gibt den niedersten osmotischen Wert für die Mittelrippenzellen und die Basiszellen beim *Helodea*-Blatt an. Nach Esteřák 1935 zeigen die Blattzähne den niedersten osmotischen Wert, während sich bei *Halophila* die Randzellen gegenüber den differenzierten Zähnen osmotisch schwächer verhalten. Im Gegensatz zu den An-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

gaben von COLLINS 1930, und von GAHLEN 1934, finden MODER 1932 und ESTEŘÁK 1935 die älteren Zellen des *Helodea*-Blattes resistenter als die jüngeren. Bei *Halophila* sind die jüngeren Zellen osmotisch wirksamer. Kleine auftretende Unregelmäßigkeiten hängen von dem physiologischen Zustand der Zellen ab.

Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, besteht ein Unterschied von 0,05 GM zwischen den Mittelrippenzellen eines jungen und eines mittelgroßen Blattes. Solche Unterschiede sind offenbar abhängig von dem Zustand des Protoplasmas (Viskosität usw.), der anscheinend mit der Zahl, dem Zustand und der Funktion der Plastiden und dem Reichtum an Stärke und mit ihrer Ableitung in Beziehung steht, wie es schon MODER für *Helodea* geltend macht (vgl. auch REUTER 1948). Nach der Form der Plasmolyse zu urteilen, würden die Blattzähne die niedrigste Viskosität haben, während sie sehr arm an Chloroplasten sind.

Harnstoffpermeabilität

Aus den Untersuchungen am *Helodea*-Blatt über die Länge der Plasmolyse- und Deplasmolysezeit, sowie über Veränderungen bei der Plasmolyse, ergibt sich, daß in der Blattlamina wesentliche Unterschiede in der Permeablität für Harnstoff bestehen. Die Zellen der Blattunterseite sind in weit höherem Grade permeabel als die der Oberseite. An der Blattoberseite und ebenso an der Unterseite sind die Zellen der Mittelrippe und Blattbasis durchschnittlich fünfmal so durchlässig wie die Zellen des Blattfeldes (MODER 1932).

Halophila zeigt einen überraschend großen Unterschied im Verhalten der Stiel- und Mittelrippenzellen gegenüber den übrigen Zellen der Blatlamina. In einer 2,0 GM Harnstofflösung in Seewasser plasmolysieren die Blattzähne, Randzellen und Feldzellen innerhalb 30 Sekunden bis 10 Minuten in starker Konvexform, während die Mittelrippenzellen aller Zonen des Blattes und die Zellen des Blattstieles unabhängig von ihrem Alter unplasmolysiert bleiben. In allen Kategorien plasmolysierter Zellen erfolgt die Deplasmolyse normal. Kürzer ist die Deplasmolysezeit der Basiszellen. — Die Mittelrippenzellen von *Halophila* haben den höchsten osmotischen Wert gegenüber den anderen Zellen des Blattes im Gegensatz zu den Angaben über *Helodea*. Doch dieser Unterschied hätte nicht die rasche Permeabilität von Harnstoff für diese Zellen erklären können, da überhaupt keine Plasmolyse eintritt. Außerdem besitzen die Zellen des Blattstieles einen mittleren osmotischen Wert zwischen dem der Rippen- und Feldzellen und bleiben ebenfalls unplasmolysiert. Hier liegt ein schönes Beispiel ungleicher Harnstoffpermeabilität zwischen Zellen verschiedener Funktion vor. Die Zellen des Blattstieles sind wegen ihrer zylindrischen Form für plasmometrische Bestimmung der Permeabilität geeignet. Es besteht die Absicht, solche Versuche fortzusetzen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Glyzerin- und Glukosepermeabilität

Das Permeablitätsverhalten der verschiedenen Zellen des *Halophila*-Blattes in Glyzerin- und Glukoselösungen ist verschieden. In 2,0 GM Glyzerin tritt in allen Zellen konvexe oder konkave Plasmolyse ein, nach dem Gradienten, der für Seewasserkonzentrationen bestimmt wurde. Nach 24 Stunden besteht noch die Plasmolyse in den meisten Zellen. Nur stellenweise sind die Feldzellen teilweise oder total deplasmolysiert; ihre Protoplasten zeigen jedoch starke Degenerationserscheinungen (Quellung des Plasmas und der Plastiden).

In 2,0 GM Glukose-Seewasserlösung wird das Blatt gemäß der für Form und Grad der Plasmolyse festgestellten Gradienten plasmolysiert. Die Plasmolyse tritt sehr langsam ein; es folgt keine Deplasmolyse und der Zellinhalt degeneriert bald. Übertragung in normales Seewasser bewirkt in beiden Fällen keine Deplasmolyse.

Nach den oben erwähnten qualitativen Angaben gehört das Blatt von *Halophila* dem *Gentiana Sturmiana*-Typ an (HÖFLER und STIEGLER 1921, 1930), d. h. das Plasma muß als hochpermeabel im Sinne der Filterwirkung angenommen werden.

Wirkung von Kalium- und Kalziumchlorid

In einer hypertonischen 2,0 GM $CaCl_2$-Lösung verläuft die Plasmolyse normal, nur die Form der plasmolysierten Protoplasten ist verschieden in den verschiedenen Zonen des Blattes. Hie und da treten abwechselnd Konkav- oder Konvexformen auf. Die Protoplasten der Stielzellen werden durch die Plasmolyse zerteilt.

Die Zellen zeigen keine Resistenz gegen hypertonische Lösungen von Kaliumchlorid. Nach 12stündigem Aufenthalt in der Lösung erscheinen Nekrosebilder. Das Plasma, welches normal eine hyaline Struktur zeigt, wird grobkörnig und die Plastiden, die in starker Systrophe zusammengeballt sind, quellen auf und entfärben sich.

Werden die Blätter der Wirkung einer hypotonischen Lösung von 0,5 GM Kalziumchlorid unterworfen, so bleiben die Protoplasten noch 24 Stunden nach dem Einlegen in die Lösung deutlich unverändert. Nach 48 Stunden sind die Protoplasten abgestorben (Änderung des Zellinhaltes, keine Plasmolyse durch 2,0 GM Glukose).

Eine 2,0 GM Kaliumchloridlösung ruft eine starke konkave oder meistens krampfartige Plasmolyseform hervor. Deplasmolyse erfolgt nie und nach längerer Zeit sterben die Protoplasten ab. Am resistentesten zeigen sich die Rippen- und Stielzellen. Übertragung aus der Kaliumchloridlösung in normales Seewasser ruft keine Deplasmolyse hervor. Interessant ist der Plasmolysevorgang in den Zähnen. Durch die Einwirkung des Plasmolytikums gelingt keine glatte Abhebung des Protoplasten, sondern es entstehen dicke Plasmawandstränge. Die weitere

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Kontraktion des Protoplasten zieht die Plasmafäden mehr aus, ohne sie von den Zellwänden abzulösen. An vielen Stellen kommen sie miteinander in Berührung und schließen auf diese Weise Vakuolen ein. Diese entstehen also sekundär infolge der Kalisalzplasmolyse.

Die Einwirkung einer hypotonischen Kaliumchloridlösung von 0,5 GM auf mehrere Stunden ruft keine Änderung der Protoplasten hervor. Nach 48 Stunden sind die Protoplasten noch lebend. Eine hypotonische Kaliumchloridlösung verstärkt im Gegensatz zur Kalziumchloridlösung die Hypotonieresistenz der Protoplasten.

Resistenz gegen Süßwasser

Über die Resistenz von marinen Pflanzen gegen Süßwasser liegen Untersuchungen nur an Algen vor (Biebl 1937 a, 1937 b, Höfler 1931). Die Resistenz des *Helodea*-Blattes wurde gegen verschiedene Mittel untersucht. Moder untersuchte die Resistenz gegen destilliertes Wasser und fand besonders die oberen Zonen des Blattfeldes und die Blattzähne empfindlich, resistenter die Zellen der Blattbasis und der Mittelrippe. Nach Meindl 1934, zeigen in destilliertem Wasser die Zellen der Mittelrippe die höchste Hypotonieresistenz und die geringste die Zellen des Blattfeldes. Die Mittelrippenzellen besitzen nach Meindl und Moder den niedersten osmotischen Wert, was gegen die Befunde Iljin's spricht. Iljin fand im allgemeinen, daß das Plasma von Pflanzen, die einen niederen osmotischen Wert besitzen, gegen Druck weniger widerstandsfähig ist und damit hypotonieempfindlicher als das von Pflanzen mit hohem osmotischen Wert.

Im Fall von *Halophila* sind im ganzen Blatt gerade die Mittelrippenzellen osmotisch wirksamer. Es war also interessant, zu prüfen, wie sie sich gegen Süßwasser verhalten.

Blätter von *Halophila* ließ ich drei Tage lang in Süßwasser. Schon nach 36 Stunden treten auffallende Veränderungen der Protoplasten auf. Die Plastiden werden um den Kern zusammengeballt und dabei quellen beide. Die Farbe der Plastiden wird blaßgelb, das Plasma verliert seine hyaline Struktur und wird grobkörnig. Das letztere ist besonders für die Stielzellen charakteristisch. Am längsten lebend bleiben die Mittelrippenzellen, d. h. die Zellen mit den höchsten osmotischen Werten. Ob wirklich der osmotische Wert dieser Zellen den Grund ihrer Resistenz darstellt, muß durch weitere Untersuchungen mit hypotonischen Seewasserkonzentrationen geklärt werden. Orientierende Versuche mit einer hypotonischen Seewasserkonzentration von 0,5 haben ähnliche Resultate gegeben.

Übertragung der Pflanze aus Leitungswasser in eine 2,0 GM Glukoselösung ruft eine starke Eindellung des ganzen Blattes hervor. Etliche Stunden später wird das Blatt in Folge Quellung der Zellwände wieder steif.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Säureresistenz

Neben anderen protoplasmatischen Unterschieden der Zellen des *Helodea*-Blattes hat WEBER 1932, die Säureresistenz geprüft. Es war daher interessant, festzustellen, wie die Zellen des *Halophila*-Blattes sich gegenüber angesäuertem Wasser verhalten.

Halophila-Blätter kamen in ein durch Essigsäure angesäuertes Seewasser; das Wasser enthielt auf 100 ccm 2, 4, 5, 6 oder 8 Tropfen Normalessigsäure. In den Mischungen blieben sie allgemein 30 Minuten. Das Ausmaß der letalen Schädigung wurde gleich nach der Behandlung festgestellt. Zur Entscheidung, welche Zellen getötet wurden, wurde Plasmolyse durchgeführt. Die Blätter wurden in normalem Seewasser abgewaschen und in eine plasmolysierende Lösung von 2,0 GM Glukose gebracht.

In allen Versuchsreihen sind die Zellen des Stieles am resistentesten. In den Lösungen mit 5 Tropfen Essigsäure und weniger sterben die Zähne und Randzellen und ein Teil der Feldzellen in kleinerem oder größerem Ausmaß ab, während die Zellen der Mittelrippen lebend bleiben.

Von den Zellen der Blattlamina sind allgemein die Blattzähne am säureempfindlichsten; dann folgen die Randzellen und die Feldzellen. Für die Feldzellen kann die Empfindlichkeit nicht nach Zonen angegeben werden, wie es für *Helodea* möglich ist, da sie sich nicht nach einem zonenartigen Gradienten verhalten, sondern unregelmäßig. Unterschiede zwischen Blattober- und Unterseite wurden nicht beobachtet.

Zentrifugierung

Ganze Blätter wurden mit der Spitze in der Richtung der Zentrifugalkraft in mit Seewasser gefüllten Röhrchen zentrifugiert. Bei einer Umdrehungszahl von 3000 Touren in der Minute und bei einer Zentrifugierungsdauer von 15 Minuten wurde keine Verlagerung des Zellinhaltes beobachtet. Bei einer Zentrifugierungsdauer von 30 Minuten wurden zuerst der Zellkern und dann die Plastiden in den Blattstielzellen und den Mittelrippenzellen in der Richtung der Zentrifugalkraft verlagert; auch bedeutende Mengen des Zytoplasmas erfahren gemeinsam mit dem Zellkern eine Verlagerung in derselben Richtung. Die Verlagerung in den Zellen des Stieles ist vollständig, in der Mittelrippe schwach, während in den übrigen Zellen des Blattes nur der Beginn einer Verlagerung wahrzunehmen ist.

Die Tourenzahl wurde dann auf 5000 in der Minute erhöht und das Material 30 Minuten geschleudert. Abgesehen von den Stiel- und Mittelrippenzellen, die sich gleich verhalten wie bei 3000 Umdrehungen in der Minute, verhalten sich alle Zähne, Rand- und Feldzellen des Blattes verschieden. An der Basis zeigen die Zellen allgemein eine

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

schwache Verlagerung, die gegen die Spitze schwächer wird, bis die Zellen in ganz unveränderten Zustand übergehen. Doch kann ich darüber nicht genaue Zahlen angeben, da zwischen den Zellen derselben Zone Unterschiede bestehen, d. h. Zellen mit geschleudertem Inhalt neben solchen, die unverändert geblieben sind, vorkommen.

Die Verlagerung der Chloroplasten wird einerseits durch die Differenz des spezifischen Gewichtes von Plasma und Chloroplasten, anderseits durch die innere Reibung bestimmt. Die leichtere Verlagerung in den Zellen des Stieles und den Rippen kann auf einer schwächeren Viskosität des Plasmas beruhen.

Drei Stunden nach der Zentrifugierung ist die Rückverlagerung in allen Zellen, die lebend sind, vollständig. In den langgestreckten und an Chloroplasten armen Zellen des Stieles ist die Rückverlagerung klar zu verfolgen. Die wenigen rundlichen Chloroplasten bleiben in Systrophe um den Kern und folgen dem Kern bei seiner Rückverlagerung. Die Bewegung des Kernes wird durch die Protoplasmaströmung beeinflußt. Es ist wahrscheinlich, daß Kohäsionskräfte die Chloroplasten um den Kern halten, so daß sie mitgeschleppt werden (Fig. 2 b). Eine solche Art der Plastidenrückverlagerung deutet auf eine passive Bewegung der Plastiden durch aktive Leistung des Protoplasmas hin (vergl. DIANNELIDIS 1950).

Verhalten bei Vitalfärbung

WEBER 1930 hat eine charakteristische Vakuolenkontraktion in *Helodea*-Blattzellen durch Vitalfärbung mit Neutralrot beschrieben. Für *Halophila* habe ich orientierende Versuche durchgeführt, um das Verhalten der verschiedenen Zellsorten des Blattes zu prüfen. Zur Vitalfärbung verwendete ich Lösungen von Neutralrot und Methylenblau in Konzentrationen 1 : 1000 und 1 : 10.000. Die Farbstoffe wurden in reinem frischen Seewasser gelöst.

Vier bis fünf Stunden nach dem Einlegen der Blätter in die Lösungen tritt eine diffuse Färbung erst in den Zähnen und dann in den Rippenzellen, mit Ausnahme derjenigen der Basis, ein (Fig. 3). Stiel-, Rand- und Feldzellen bleiben ungefärbt. Später, nach 20 bis 24 Stunden, entstehen in den Vakuolen aller Zellkategorien mehrere dunkelrot gefärbte Tröpfchen. Die Tröpfchen vergrößern sich bei zunehmender Farbstoffspeicherung allmählich und fließen in einander über. Dadurch entstehen größere rubinrote Tropfen. Nach längerer Zeit dehnt sich die diffuse Färbung, mehr oder weniger von Entmischungsvorgängen begleitet, über alle Zellen des Blattes aus. 15 bis 20 Minuten nach Einlegen in die Farbstofflösung erscheinen in manchen Blättern in den Randzellen zahlreiche tief-violett gefärbte Tröpfchen, bevor die schon beschriebene diffuse Färbung eintritt.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Nach 24 Stunden und kurz vor dem Absterben der Zellen tritt vitale Färbung der Chloroplasten ein. Dasselbe wurde zum erstenmal von WEBER, 1930, an *Helodea*-Zellen beschrieben. In *Halophila* nehmen die Chloroplasten, genau wie es WEBER angibt „infolge ihrer ursprünglich rein grünen Färbung eine braune Mischfarbe an, die immer dunkler wird". Die Zellen in denen eine solche Chloroplastenfärbung vor sich geht, sind am Leben, da sie sich durch eine 2,0 GM Glukoselösung plasmolysieren lassen. In den Zähnen, die wegen der geringeren Zahl der Chloroplasten durchsichtig sind, ist sogar eine Plasmarotation sichtbar.

Nach einem dreitätigen Aufenthalt der Blätter in Neutralrot zeigen die Zellen ganz unregelmäßig eine diffuse Vakuolenfärbung, Entmischungsvorgänge im Zellsaft (Farbstoffspeicherung) oder der Farbstoff ist in Form von zierlichen Kriställchen in der Vakuole vorhanden (kristalline Farbstoffspeicherung).

Die Anfärbung mit Methylenblau geht ähnlich wie die mit Neutralrot, nur bedeutend schwerer vor sich. Die Vakuolen werden erst hellblau gefärbt. Entmischungsvorgänge treten erst in den Zähnen und Randzellen ein; sie schreiten später allmählich gegen die Feldfläche zu.

Nach 6—7 stündigem Aufenthalt der Blätter in Neutralrot oder Methylenblau tritt in verschiedenen Zonen des Blattes, und besonders in den Zähnen und Randzellen Reizplasmolyse und Vakuolenkontraktion ein. Die Vakuole kontrahiert sich, während das Cytoplasma aufquillt und teilweise den Zellraum bis an die Wände füllt.

Methylenblau schädigt stärker als Neutralrot: Die Zellen des Blattes von *Halophila* sterben viel rascher in Methylenblau als in Neutralrot ab. Schon 24 Stunden nach dem Einlegen in die Farbstofflösung beginnen nekrobiotische Erscheinungen in den Zellen meist in Begleitung von Reizplasmolyse, die zum Platzen der Vakuolen und Austreten der farbigen Tropfen führt.

Die Ergebnisse der Versuche über das Verhalten bei Vitalfärbung des ausführlich untersuchten *Helodea*-Blattes stimmen nicht genau mit denen über *Halophila stipulacea* überein. Nach ENDLER, SEGEL, LEPESCHKIN sollen sich die Mittelrippenzellen und Basalzellen an *Helodea* mit Anilinfarben besonders rasch und intensiv färben. Die genannten Autoren nehmen diese Erscheinung als Folge einer höheren Permeabilität dieser Zellen an. Die Befunde MODERS stehen in direktem Widerspruch dazu, so wie auch die GICKLHORNS. Nach Angaben dieser beiden Verfasser färbt sich die Mittelrippe und Blattbasis nur schwach oder gar nicht; nach MODER färben sich „bei Vitalfärbung mit Neutralrot die Zellen der Mittelrippe, der Blattbasis und des Blattrandes am langsamsten und schwächsten".

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Vitalfärbungsversuche an Basal- und Stielzellen von *Halophila* bleiben ohne Wirkung, während die Zähne und Rippenzellen den Farbstoff am schnellsten annehmen.

Über den Grund der Nichtanfärbung nicht ausgewachsener Zellen in der Basis der jungen *Helodea*-Blätter, weichen die Ansichten der einzelnen Autoren von einander ab (LILIENSTERN 1935, STRUGGER 1935, 1936, DRAWERT 1937, usw.). Meine Untersuchungen über Harnstoffpermeabilität des Blattes von *Halophila* haben eine hohe Permeabilität für diese Substanz gezeigt. MARKLUND 1936, fand am *Helodea*-Blatt: je jünger eine Zelle ist, desto geringer ist ihre Harnstoffpermeablität. Bei *Halophila* gilt die hohe Permeabilität für Harnstoff nicht nur für die jungen Basalzellen, sondern auch für die Rippenzellen älterer Zonen. Die Permeabilitätsunterschiede der *Halophila*-Zellen, seien sie durch die Protoplasten oder durch die Zellwände bedingt, geben wohl eine Erklärung für die Unterschiede bei Vitalfärbung für die Basis- und Rippenzellen (vergl. STRUGGER), nicht aber für die Zähne. Auf Grund der bisherigen Untersuchungen ist es nicht möglich, das Verhalten der Blattzähne zu erklären.

Zusammenfassung

Die Untersuchungen zur Protoplasmatik des Blattes der marinen *Halophila stipulacea* brachten folgende Ergebnisse:

1. Der Plasmolysegradient schreitet vom Rand der Blattlamina zu den Feld- und Mittelrippenzellen vor. Die Form der Plasmolyse ist abwechselnd konkav oder konvex, unabhängig vom Alter der Zellen. Der negative Plasmolyseort der Blattzähne aller Entwicklungsstadien und der undifferenzierten Randzellen liegt an der Grundmembran, ohne Beziehung zu der Wachstumsstelle der Membran.

2. Die Blattlamina läßt einen Gradienten des osmotischen Wertes vom Rand zur Mitte feststellen. Den niedersten osmotischen Wert besitzen die Randzellen, es folgen die Blattzähne, Stielzellen, Feldzellen und Mittelrippenzellen; die letzteren weisen den höchsten osmotischen Wert auf. Osmotisch wirksamer sind allgemein die jüngeren Zellen.

3. Die Zellen des Stieles und der Mittelrippe sind für Harnstoff hochpermeabel. Glyzerin und Glukose dringen in die Zellen von *Halophila* nicht ein.

4. Gegen Kalium- und Kalziumeinwirkung in hyper- und hypotonischen Lösungen zeigen die Blattzellen von *Halophila* verschiedene Resistenz.

5. Süßwasser wirkt schädlich auf die Zellen; die Mittelrippenzellen, die den höchsten osmotischen Wert besitzen, zeigen sich dabei am resistentesten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

6. Gegen angesäuertes Wasser ist die Resistenz der Mittelrippenzellen am höchsten, am geringsten die der Blattzähne.

7. Das *Halophila*-Blatt verträgt die Verlagerung des Zellinhaltes durch Zentrifugierung gut; in kurzer Zeit erfolgt eine völlige Rückverlagerung des Zellinhaltes in allen Zellen.

8. Bei Vitalfärbung mit Neutralrot- und Methylenblaulösungen ergeben sich Unterschiede zwischen dem Verhalten der Zähne und der Rippenzellen einerseits und dem der übrigen Zellen des Blattes andererseits.

Es hat sich gezeigt, daß im Blatt der marinen *Halophila stipulacea* ebenso wie in dem der Süßwasserpflanze *Helodea* eine physiologische protoplasmatische Ungleichheit zwischen den einzelnen Zonen und Regionen besteht. Die protoplasmatische Differenzierung und die Zellphysiologie beim *Halophila*-Blatt stimmt allerdings nicht in allen Punkten mit der des *Helodea*-Blattes überein.

Literatur

ALDABA, V. C. 1927. The structure and development of the cell wall in plants. I. Bastfibres of *Boemehria* and *Linum*. Amer. J. Bot. 14: 16.

BIEBL, R., 1937 a. Zur protoplasmatischen Anatomie der Rotalgen. Protoplasma 28: 562.

— 1937 b. Ökologische und zellphysiologische Untersuchungen an Rotalgen der englischen Südküste. Beih. bot. Zbl. A, 57: 381.

CHOLNOKY, B. 1931. Untersuchungen über den Plasmolyseort der Algenzellen, Die Plasmolyse der Gattung *Oedogonium*. Protoplasma 12: 510.

COLLINS, W., 1930. Giftresistenz verschieden alter *Helodea-Blätter*. Protoplasma 12: 549.

DIANNELIDIS, Th., 1950. Plastiden-Rückverlagerung nach Zentrifugierung und Narkose. Protoplasma 39: 244.

DRAWERT, H., 1937. Protoplasmatische Anatomie des fixierten *Helodea*-Blattes. Protoplasma 29: 206.

ENDLER, 1912. Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. I. Über die Beeinflussung der Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle durch Salze. Bioch. Z. 42: 440.

ESTERÁK, K. B., 1935. Resistenz Gradienten in *Helodea*-Blättern. Protoplasma 23: 367.

GAHLEN, K., 1934. Beiträge zur Physiologie der Blattzellen von *Helodea canadensis*. Protoplasma 22: 337.

GICKLHORN, J., 1926. Über die vitale Kern- und Plasmafärbung an Pflanzenzellen. Protoplasma 2: 14.

GRATZY, E. und WEBER, Fr., 1931. Plasmolyseort und Membranwachstum. Protoplasma 12: 559.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

HÖFLER, K., 1931. Hypotonietod und osmotische Resistenz einiger Rotalgen. Österr. bot. Z. 80: 52.

HÖFLER, K. und STIEGLER, A., 1921. Ein auffälliger Permeabilitätsversuch in Harnstofflösung. Ber. dtsch. bot. Ges. 39: 137.

— 1930. Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. Protoplasma, 9: 469.

KÜSTER, E., 1929. Pathologie der Pflanzenzelle. I. Pathologie des Protoplasmas. Berlin.

ILJIN, W. S., 1934. Kann das Protoplasma durch den osmotischen Druck des Zellsaftes zerdrückt werden? Protoplasma 20: 571.

LEPESCHKIN, W. W., 1930. Light and the permeability of protoplasm. Amer. J. Bot. 17: 953.

LILIENSTERN, M., 1935. Altersunterschiede von Zellen einiger Wasserpflanzen in Bezug auf ihr Reduktionsvermögen. Protoplasma 23: 86.

MARKLUND, G., 1936. Vergleichende Permeabilitätstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta bot. Fenn 18 (1).

MEINDL, T., 1934. Weitere Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma 21: 362.

MODER, A., 1932. Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma 16: 1.

POLITIS, J., 1930. Plantes marines de la Grèce. Rap. et proc. Verb. de Réun. Intern. pour l'explor. scient. de la Mediterr., 5 (nouv. Ser.): 195.

REUTER, L., 1948. Zur protoplasmatischen Anatomie des Keimblattes von *Soja hispida*. Österr. bot. Z. 95: 373.

RUGE, U., 1940. Kritische zell- und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Blattzähnen von *Helodea densa*. Flora 34: 311.

SEGEL, 1918. Zitiert bei MODER. Protoplasma 16: 1.

STRUGGER, S., 1934. Beiträge zur Physiologie des Wachstums. I. Zur protoplasmaphysiologischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. Jb. wiss. Bot. 79: 406.

— 1935. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin.

WEBER, Fr., 1925. Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Österr. bot. Z. 74: 256.

— 1929. Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasma 8: 291.

— 1930. Vakuolenkontraktion vital gefärbter *Elodea*-Zellen. Protoplasma 9: 106.

— 1931. Harnstoffpermeabilität ungleich alter Spirogyra-Zellen. Protoplasma 12: 129.

— 1932. Protoplasmatische Ungleichheit morphologisch gleicher Zellen. Protoplasma 15: 291.

— 1932. Unterschiede in der Säureresistenz der *Helodea*-Blattzellen. Protoplasma 16: 287.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1951

Band/Volume: 3_1_2

Autor(en)/Author(s): Diannelidis Themistokles

Artikel/Article: Zur protoplasmatischen Anatomie des Blattes von Halophila stipulacea. 29-43