

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

Untersuchungen über die Harzbildung in Koniferennadeln.

Von

E. Hannig.

Mit 3 Abbildungen im Text und Tafel III und IV.

In den tierischen Drüsenzellen, die stets auf der sezernierenden Seite membranlos sind, wird das Sekret im Zytoplasma gebildet, um dann auf verschiedene Weise nach außen befördert zu werden (vgl. A. Meyer, 1920, 310). Für die Pflanzendrüsen¹ liegen die Verhältnisse dadurch verwickelter, daß in den Sekretionsgang die Zellmembran eingeschaltet ist, die bekanntlich der Schauplatz mannigfacher chemischer Umsetzungen sein kann.

Nur in vereinzelten Fällen wurde bisher bei pflanzlichen Drüsen das Auftreten des Sekretstoffes innerhalb der Zellen angegeben (Gummiharzbildende Kolliteren, Hanstein, 1868, Hautdrüsen von *Ononis spinosa*, Behrens, 1886, 400², Groom, 1893, 255), und diese Angaben erscheinen ungewiß, da sie später bestritten oder in Zweifel gezogen wurden (Tschirch, 1900, 1906, Tunmann, 1900, 14 ff., A. Meyer, 1920, 311). Bei den meisten Drüsenzellen konnte das Sekret überhaupt nicht innerhalb der Protoplasten gefunden werden, sondern wurde, vor dem Erscheinen auf der Drüsenoberfläche, entweder zuerst innerhalb der Membran (Wachsdrüsen, De Bary, 1871, Gummischleim abscheidende Kolliteren, Hanstein, 1868), oder im Zwischenraum zwischen Zellulosewand und Cuticula (Drüsenhaare, de Bary, 1877) beobachtet. Über die Deutung dieser Erscheinung gingen die Meinungen auseinander. Die einen hielten es für das Wahrscheinlichste, daß das Sekret unter dem Einfluß des lebenden Protoplasten durch chemische Vorgänge innerhalb der

¹) Definition, s. A. Meyer, 1920, 310.

²) Vgl. Haberlandt, 1918, 542.

APR 10 1923

Membran gebildet werde (Hanstein, 1868, de Bary, 1871, 592, Haberlandt, 1918, 477, A. Meyer, 1920, 310), andere neigten mehr der Ansicht zu, daß der Ausscheidungsstoff im Plasma aufgebaut, aber sofort nach seiner Entstehung abgeschieden werde, und sich deshalb erst außerhalb des Protoplasten in mikroskopisch sichtbarer Menge anhäufe (Rothert, 1913, 1214).

Im Jahre 1900 hat nun Tschirch eine neue Theorie der Sekretbildung aufgestellt, die sich an die de Barysche anlehnt, sich aber mit den herrschenden Anschauungen über Chemie und Biologie des Zellstoffwechsels schwer in Einklang bringen läßt. Nach T.s Meinung soll das Sekret in einem außerhalb der Zelle auftretenden Schleimbeleg der von ihm als »resinogene« Schicht bezeichnet wird, gebildet werden (Tschirch, 1900, 359 ff.).

Es soll dies »eine eigenartige der Wand aufgelagerte Schicht« sein, »die nicht Harz war, in die aber Harz sich eingelagert findet«. T. glaubte sie bei zahlreichen Harzbehältern verschiedener Umbelliferen, Araliaceen, Kompositen, Koniferen usw. nachweisen zu können. Da er in den sezernierenden Zellen dieser Drüsen niemals ölige Tropfen oder Harz fand, schloß er, daß die genannte Schleimschicht das Laboratorium der Harzbereitung sei. »In ihr, nicht aus ihr wird der Harzbalsam gebildet, und zwar aus den ihr von den sezernierenden Zellen zugeführten resinogenen Substanzen« (Tschirch, 1906, 1131). Diese Untersuchungen haben dadurch im Laufe der Jahre ein besonderes Gewicht erhalten, daß sie von Tschirch und einer großen Zahl seiner Schüler nicht nur auf alle wichtigeren harzbildenden Pflanzen, sondern auch auf die ölbildenden Sekretbehälter, die Ölzellen, Drüsenhaare, Kolliteren, auf Kern- und Wundholzbildung usw. ausgedehnt wurden, und daß T. angibt, überall eine resinogene oder wie er sie nun nannte »secretogene« (Tschirch, 1917, 11) Schicht oder analoge Gebilde gesehen zu haben. (Lit. darüber s. Tschirch, 1906, 1095 und 1096, Anm.) Auf Grund dieser erweiterten Feststellungen sprach sich T. nun auch bestimmter als zu Anfang über die resinogene Schicht aus und erklärte ihre merkwürdigen Fähigkeiten dadurch, daß sie sekretbildende Enzyme enthalte (Tschirch, 1917, 86). »Dieses Verhalten erweitert ...

unsere Kenntnisse . . . von den Leistungen der Membran, die zugunsten des Plasmas bisher hintangesetzt wurden. Sie verwischt gewissermaßen die Grenzen zwischen Zellinhalt und Zellmembran und bringt dadurch die pflanzliche Zelle der tierischen näher.« (Tschirch, 1908, 89.) Es ist begreiflich, daß Tschirchs beharrliche Forschung und Betonung seiner Anschauungen auf die Botaniker nicht ohne Einfluß blieb und mit der Zeit wenigstens die Ansicht, daß die Sekrete nur in einer schleimigen Schicht außerhalb der Zelle in nachweisbarer Menge auftreten für wahrscheinlich gehalten wurde (Rothert, 1913, 1214, Küster, 1915, 769, Haberlandt, 1918, 503), wenn auch die meisten Forscher Ts. Folgerungen in bezug auf die chemische Aktivität der Schleimschicht skeptisch gegenüberstanden (Euler, 1909, 234, Rothert, l. c., Reinitzer, 1913, 12, Haberlandt, l. c., A. Meyer, 1920, 311). Weniger Bedenken in bezug auf diesen Punkt hatte Czapek (1921, 589), der schreibt: »Heute ist es schwer, über die Tragweite der wichtigen Untersuchungen Tschirchs ein abschließendes Urteil zu fällen . . . und ich halte Tschirchs Feststellung, daß der Schleim in gewissen Membranschichten zuerst sichtbar zu werden pflegt, für sehr bedeutungsvoll. Wenn es sich auch kaum angeben läßt, wo die weitere Forschung über die Sekretbildung einzusetzen haben wird, wird man schon jetzt dessen eingedenk sein müssen, daß möglicherweise chemische Wirkungen vom Plasma ausgehend, in allen Wandschichten entfaltet werden, daß katalytische Wirkungen mannigfaltiger Art im Spiele sind, und daß die unbekanntes Bildungsmaterialien der Sekrete sowohl unter den Membransubstanzen selbst, als auch in Stoffen, die vom Cytoplasma aus in die Membran eindringen, geboten sein können.«

Trotz der Auffälligkeit der Tschirchschen Angaben wurde nur einmal von anderer Seite eine genauere Nachprüfung seiner Beobachtungen vorgenommen¹. E. Schwabach untersuchte die Harzbehälter von Koniferennadeln, auf die sich auch Tschirchs Angaben beziehen, und fand im Gegensatz zu Tschirch in den Epithelzellen zahlreicher Pinus-, Abies-, und Juniperusarten Harztröpfchen, die sich mit Kupferacetat grün färbten. Diese

¹ Eine gelegentliche Bemerkung findet sich bei Heller (1904, 31), der angibt, daß er öfters in den die Harzgänge auskleidenden Zellen Harztröpfchen gefunden habe.

Beobachtungen erklärt sich T. durch die Annahme, »daß die gefärbten Tropfen in die sezernierenden Zellen entweder durch Präparation gelangt, oder, wenn doch vorhanden, überhaupt nicht Harzbalsam, sondern fettes Öl seien,« und schrieb später zu der Bemerkung von Frau Schwabach, daß jeder Zweifel hinsichtlich des Auftretens der Harztröpfchen in den Zellen ausgeschlossen sei: »Ich halte das keineswegs für ausgeschlossen. Denn die Erfahrung an Tausenden von Präparaten hat mich ganz im Gegenteil gelehrt, daß es außerordentlich schwierig ist, ein Verschmieren des Harzbalsams zu vermeiden, und zunächst wird dasselbe natürlich in die dem Kanal benachbarten Zellen hineingeführt werden. Für mich sind daher nur jene Fälle von Beweiskraft gewesen — und ihre Zahl ist Legion — wo in sezernierenden Zellen kein Harzbalsam sich fand« (l. c. 1131).

Untersuchungs-Methode.

Um die Struktur des Inhalts der Harzkanäle beim Fixieren nach Möglichkeit zu schonen, mußte eine Verletzung der Gänge, bei der das Harz eventuell auch aus den Epithelzellen ausfließen konnte, vermieden werden. Von diesem Gesichtspunkt aus wurden Koniferennadeln, im allgemeinen nur solche von Abiesarten (*Abies Nordmanniana*, *A. pectinata*, *A. grandis*, *A. balsamea*) als Untersuchungsmaterial gewählt. C. Zollikofer hat in einer besonderen Mitteilung (1917) festgestellt, daß die Harzgänge der Koniferennadeln in diesen an der Basis blind endigen, also nicht mit dem Harzkanalsystem der Rinde oder des Holzes in Verbindung stehen. Ich hatte bei mikroskopischer Untersuchung das gleiche gefunden und konnte dies Verhalten auch noch in sehr einfacher Weise experimentell bestätigen. Schneidet man ein Nadelblatt mit einem scharfen Instrument unter Wasser quer durch, so sieht man aus den geöffneten Sekretgängen langsam kleine Harztröpfchen austreten, die sich sofort in Wasser abrunden und an der Mündung der Harzgänge hängen bleiben. Ebenso kann man, am besten an solchen Nadeln, bei denen die Harzgänge dicht unter der Epidermis liegen (s. o.), nachdem man die Harzgänge durch Entfernen des Gewebes der Blattoberseite freigelegt hat, zeigen, daß bei der geringsten Verletzung mit der

Präpariernadel sofort Harztröpfchen aus der Wunde ausgepreßt werden und sich im Wasser kugelig abrunden. Löst man nun eine erwachsene Koniferennadel oder eine junge Nadel aus einer Knospe unter Wasser vorsichtig von der Zweigachse ab, dann bilden sich an der Abgliederungsstelle keine Tröpfchen. Schneidet man aber von der Basis der abgetrennten Nadel nach und nach kleine Stückchen ab, dann trifft man bald auf die blinden Enden der Harzkanäle und sieht jetzt aus der Mündung derselben Harztröpfchen hervorquellen.

Bei vorsichtigem Abbrechen der Nadel von der Zweigachse kann man also darauf rechnen, daß die Harzkanäle derselben unverletzt bleiben.

Es gilt nun das Harz in diesen Gängen nicht nur durch Färbung hervortreten zu lassen, sondern womöglich gleichzeitig zu härten. Tschirch hatte »ausschließlich relativ dicke Schnitte« untersucht und außerdem die Pflanzenteile zuvor langsam bei 100° getrocknet; dadurch wird das ätherische Öl am Orte seiner ursprünglichen Lage verharzt und die Harzbalsame werden fest, so daß sie »durch das Messer nicht oder nur schwer aus dem Behälter herausgerissen werden«. Zum Färben hatte er Alkana benützt, »die so stark verdünnt war, daß sie Harz nicht mehr löst und doch gut tingiert« (l. c. 1119). Diese Methode hatte den Nachteil, daß sie die feineren Zell- und Plasmastrukturen schädigen und die den Sekretgang füllenden Harzsubstanzen sowie eventuell in den Epithelzellen vorhandene Harztröpfchen zum mindesten in ihrer Gestalt stark verändern mußte. Um dem zu begegnen, kam es hauptsächlich darauf an, das Harz möglichst unverändert zu fixieren, wobei es vorerst unwesentlich war, ob die verwendete Methode nur Balsam oder zugleich auch fette Öle, Wachs usw. charakterisierte.

Als »gut brauchbar« für Koniferenharz bezeichnet Tschirch das von Franchimont eingeführte Kupferacetat, das auch von Tunmann (1913, 233) und Molisch (1921, 167) empfohlen wird, und das E. Schwabach ausschließlich verwendet hatte. Dieses Reagens wurde von mir zuerst allein, dann in Mischung mit anderen Fixiermitteln auf sein Verhalten gegenüber Koniferenharz in folgender Weise geprüft: Auf Objektträger wurden Harztröpfchen aus einer Nadel ausgepreßt, Umriß und Charakter

der entstehenden Schlieren gezeichnet, die Schlieren mit dem Fixiermittel betropft und von einem Deckgläschen bedeckt in einer feuchten Kammer gehalten. Es zeigte sich, daß in reinem Kupferacetat die Gestalt und Struktur der Schlieren auch in den feinsten Ausläufern unverändert blieben, das Acetat also geeignet war auch im Gewebe die Struktur des Harzvorkommens zu erhalten. Die Färbung begann schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde und erreichte nach etwa 24 Stunden die größte Intensität. Die dickeren Tropfen erschienen smaragdgrün, die dünnen Schlieren nur blaßblaugrün oder bläulich gefärbt. Man muß also bei der Beurteilung von gefärbten Präparaten letzteren Umstand berücksichtigen und darf nicht aus schwacher Färbung kleinerer Tropfen ohne weiteres schließen, daß sie kein Harz seien. (Tschirch, 1906, 1132.) — Legt man ganze Nadeln in Acetat, so zeigt sich, daß dasselbe von der Ablösungsstelle an der Nadelbasis über die ganze Breite der Nadel gleich schnell vordringt. Bei einer jungen Nadel von *Abies pectinata* von 10 mm Länge waren nach 48 Stunden etwa $\frac{2}{3}$ der Nadel infiltriert, die Harzfäden der beiden Sekretgänge auf dieser Strecke leuchtend smaragdgrün, im übrigen farblos. Wurden die Blätter mit einem Skalpell längs der Mittelrippe gespalten oder mit einer Präpariernadel unter Schonung der Harzgänge durchbohrt, was sich bei den benützten Abiesarten leicht ausführen läßt, da die Lage der Harzgänge auf der Blattunterseite mit bloßem Auge gut erkennbar ist, so waren die Harzfäden schon nach 24 Stunden gleichmäßig tingiert. Die gegenteilige Angabe von Tunmann¹ erklärt sich vielleicht dadurch, daß er basisches, nicht neutrales Kupferacetat benutzte.

In den mit reinem Acetat gefärbten Nadeln war aber nach 10tägiger Behandlung der Harzfäden in den Gängen noch so weich, daß er sich zu langen Fäden ausziehen ließ. Es wurden daher Fixiermittel geprüft, die sich mit Kupferacetat, das der Färbung wegen nötig war, mischen ließen, und schließlich in einer Lösung von 1 % Chromsäure in ges. Kupferacetat eine Flüssigkeit gefunden, welche zugleich intensiv färbte und härtete.

¹) » . . trotz vieler Versuche mit allen möglichen Arten von Koniferennadeln, welche des besseren Eindringens der Lösung wegen überdies zerschnitten waren, . . war das Harz noch nach einem Monat gelb« (Tunmann, 1900, 10).

Chromsäure allein wirkt allerdings zerstörend auf die Harzschlieren, da es sie nach 12 bis 24 Stunden in gänzlich veränderte Massen mit zum Teil grobblasiger Struktur verwandelt. Werden aber auf dem Objektträger ausgestrichene Tropfen mit dem Gemisch von Chromsäure und Kupferacetat behandelt, dann färben sich die Harztröpfchen klar smaragdgrün und bleiben auch nach 24 oder 48 Stunden unverändert.

Bei in toto mit diesem Gemisch fixierten Nadeln war der harzige Inhalt der Kanäle nach 5 bis 6 Tagen nicht mehr in Fäden ausziehbar, sondern nur noch bröckelig wie wasserarme Gelatine und zeigte bei längerer Einwirkung glasartige Bruchfiguren. Ein Verschmieren von Harztröpfchen beim Präparieren über die Schnittfläche war also bei mit Chromsäure-Kupferacetat gehärtetem Material nicht mehr möglich. Das Fixiermittel hat jedoch den Nachteil, daß es sich mit der Zeit zersetzt und bei monatelanger Einwirkung die Harzmassen verändert. An Stelle der anfangs gleichmäßig grünen Harzfäden findet man dann z. B. solche, die nur noch eine schmale grüne Außenschicht besitzen, während der achsiale Teil in eine feinblasige, dunkel erscheinende Masse umgewandelt ist. Bei Materialien, die lange liegen bleiben sollen, muß also nach einigen Monaten oder sobald die Fixierung beendet ist, das Fixiermittel ausgewaschen und durch reine Kupferacetatlösung ersetzt werden.

III. Zur Frage der resinogenen Schicht.

In Umbelliferen- und Kompositen-Rhizomen, sowie in jüngeren Blättern von *Abies pectinata* und *Nordmanniana*. »bei denen die Harzkanäle im Querschnitt noch aus vier Zellen bestehen«, löste Tschirch das Harz mittels Alkohol heraus, und fand dann noch einen kleinen Rückstand, der auf Wasserzusatz quoll und durch Alkohol sich kontrahierte, also den Charakter einer Schleimsubstanz besaß (1906, 1120). In späteren Stadien stellte er in der Mitte des Kanals eine rundliche oder ovale Höhle fest, »die meist Harzbalsam führt«, während »der nunmehr ziemlich stark herangewachsene Schleimbeleg der sezernierenden Zellen reichlich mit Harz durchtränkt ist«. Dieser Schleimbeleg, die »resinogene Schicht«, soll in typischen Fällen in Wasser so aufquellen, daß er »bisweilen

nahezu den ganzen Kanal erfüllt« (l. c. 1122). »Das letztere ist nun freilich, wie es scheint, nur bei Kanälen der Fall, die noch nicht völlig entwickelt sind und wurde von mir bisher auch nur bei Umbelliferenkanälen beobachtet, aber eine Quellung ist fast immer zu beobachten« (l. c. 1128).

Ohne auf die Einzelheiten der Nachuntersuchung einzugehen, kann ich nur bestätigen, was E. Schwabach (1899, 419) festgestellt hat¹, daß sich weder in jungen noch in älteren Nadeln von Abies-Arten auf dem von Tschirch angegebenen Wege ein Schleimbeleg in den Harzkanälen auffinden läßt. Wohl sind zuweilen in Alkohol abs. oder in einer Mischung von Alkohol und Äther unlösliche Reste des Harzfadens vorhanden, aber diese liegen — abgesehen von den unten beschriebenen »Hüllen« (vgl. S. 404) — weder an den Kanalwänden, noch sind sie in Wasser im geringsten quellbar.

Um noch auf eine andere als die von Tschirch angegebene Methode nach der resinogenen Schicht zu suchen, wurden die Harzkanäle jüngerer und älterer Nadeln in unverletztem lebenden Zustand untersucht. Gerade Nadeln vieler Abiesarten bieten die Möglichkeit hierzu, da bei ihnen, wie oben erwähnt, die Harzgänge nahe an der Epidermis der Blattunterseite, nicht tief im Mesophyll, liegen, daher auf der Blattunterseite in ihrem ganzen Verlauf hervortreten und sich durch Abspalten des Gewebes der Blattoberseite leicht auf genügend große Strecken unverletzt frei legen lassen².

An solchen Präparaten läßt sich schön beobachten, daß der ganze Harzkanal erwachsener Nadeln von einer homogenen wasserklaren Flüssigkeit gleichmäßig bis zu den scharf erkennbaren Konturen der Epithelzellen erfüllt ist³. Von einer

¹ Vgl. auch Münch (1920, 38).

² Störende Mesophyllzellen können durch vorsichtiges Abkratzen mit dem Skalpell entfernt werden.

³ In vielen Dutzenden solcher Präparate fand sich niemals Luft in den Kanälen, wie Franchimont angibt (1871, 432), der daraus schloß, daß Luft zur Harzbildung nötig sei. Bringt man durch Anschließen angeschnittener Nadeln an eine Luftpumpe und weitere geeignete Behandlung Luftblasen in einen Nadelgang, so erhält man nicht zu verkennende schwarz umrandete Blasenbilder. — Die häufig anzutreffenden Abbildungen von Harzkanälen nach Schnittpräparaten, in denen einzelne Tröpfchen liegen (z. B. Molisch, Fig. 76, S. 73), geben demnach ein falsches Bild von dem Auftreten des Harzes in den Harzkanälen.

Differenzierung in eine Schleimschicht, die schwächere Lichtbrechung zeigen müßte, und einen Harzkörper in der Achse des Ganges, ist nichts zu sehen.

Wichtiger als die Untersuchung erwachsener Kanäle, von denen Tschirch selbst angibt, daß ihre resinogene Schicht bald zugrunde ginge, ist diejenige ganz junger Nadeln, in denen der Harzkanal in Entwicklung begriffen ist. Tschirch hat besonders betont (z. B. 1906, 1116), daß das Harz auch in den jüngsten Entwicklungsstadien in den Gängen vorhanden sei, während es in den zugehörigen Epithelzellen fehle, und hat auch darin eine Stütze seiner Theorie der Harzbildung im Kanallumen gesehen. Er schreibt jedoch an anderer Stelle, daß in den jüngsten Entwicklungsstadien der Kanal mit Schleim erfüllt ist (Tschirch, 1906, 1121, Fig. 87, 1—6), der in etwas älteren Nadeln »der gegen den Kanal gerichteten Wand der Sezernierungszellen aufgelagert und gegen den Kanal hin durch eine scharfe Linie abgegrenzt sei« (l. c. 1120). Keine der beiden Angaben, deren letztere allerdings für die Umbelliferen zutreffen dürfte, konnte ich für die Abiesnadeln bestätigen.

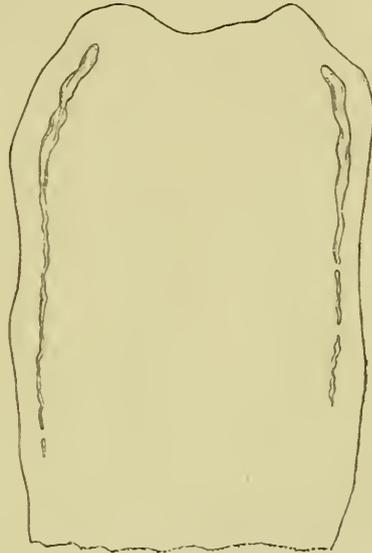


Abb. 1. Blattanlage von *Abies grandis*, 1,5 mm lang. Harzkanäle an den Enden keulig angeschwollen, an der Basis in Entstehung begriffen.

Die ersten Stadien der Entwicklung der Harzkanäle sind an den Blattanlagen in der Nähe des Vegetationspunktes zu finden, schon in der Winterknospe, besser bei beginnender Entfaltung im Frühjahr. Die Anlagen der Gänge liegen an der Grenze des erst schwach ergrüntem Spreitenteiles und des ganz farblosen Nadelrandes und lassen in durchfallendem Licht Umriß und Inhalt der jungen Kanäle vollkommen deutlich erkennen (Abb. 1). Da die Nadel an der Basis, am »Blattgrund«, in die

Länge wächst, liegen die jüngsten Teile der Harzgänge am Nadelgrund. Hier sind die Wandzellen des Ganges eben erst im Auseinanderweichen begriffen, während in der Nähe der Nadelspitze schon schlauchförmige Interzellularräume von beträchtlichem Durchmesser zu sehen sind. (Abb. 1.) In solchen Kanälen lebender Blattanlagen findet man auch bei verhältnismäßig starker Vergrößerung (Zeiß, Oc. 3, Obj. F.) stets homogene Harzfäden,

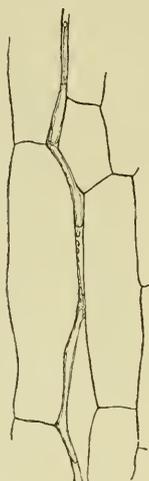


Abb. 2. *Abies Nordmanniana*. Teil eines in Entwicklung begriffenen Harzkanals aus einer 8 mm langen Knospe.

die an engen Partien der Kanäle wie ölartige zähflüssige Tröpfchen sich mit konvexen Menisken abgrenzen, eventuell in die engen Spalten hinein sich in Form isolierter kleiner Striche oder Tropfen fortsetzen. (Abb. 2.)

Diese strich- oder punktartige Unterbrechung der Harzfäden zeigt, daß in den ersten Entwicklungsstadien kleine kapillare Teile der Harzgänge vorhanden sind, die noch kein Harz enthalten. Daß hier kein Schleim die Zwischenräume zwischen den Harzteilen ausfüllt, geht daraus hervor, daß bei Behandlung solcher Nadeln mit Sudanalkohol, worin der Schleim härter werden müßte, Harztröpfchen sich in den Interzellularspalten wie Öltröpfchen anscheinend ungehemmt verschieben, wie man bei Dauerbeobachtung solcher Präparate leicht feststellen kann. Die kapillaren Räume enthalten aber ebensowenig wie die erwachsenen Harzkanäle Schleim (s. o. S. 392), sondern eine klare Flüssigkeit, deren Natur allerdings nicht zu bestimmen war, deren Auftreten jedoch bei dem Harzbalsam, der aus Harz und Terpentin oder ähnlichen Lösungsmitteln zusammengesetzt ist, nichts Auffallendes hat. Vielleicht handelt es sich aber auch um denselben flüssigen Inhalt, der infolge Ausfließens von Harz bei Verwundung von Sekretgängen auftritt. Hier sieht man in mit Kupferacetat gefärbten Präparaten, daß längere Harzfadenstücke mit harzfreien Räumen abwechseln, die von einer klaren Flüssigkeit angefüllt sind. Da diese Flüssigkeit in demselben Augenblick im Harzkanal auftritt, in dem das Harz aus der Wunde

fließt¹, ist anzunehmen, daß sie aus den Epithelzellen stammt, daß es sich also um eine wäßrige Flüssigkeit handelt, die bei der Regeneration des Harzfadens allmählich wieder von den Epithelzellen aufgenommen wird.

Man hat bei der Betrachtung des Inhalts der jungen Kanäle ohne weiteres den Eindruck, daß er nur aus Harzbalsam besteht, daß nicht nur kein schleimartiger Wandbeleg vorhanden ist, sondern daß auch dem Harzbalsam keine Spur von Schleimsstoffen beigemischt ist. Schneidet man, um darüber Klarheit zu erhalten, die jungen Blattanlagen vorsichtig am Rande ein, so treten aus der Schnittfläche große, homogene, ölige Tröpfchen, die sich mit Osmiumsäure schwärzen, mit Sudan intensiv rot, mit Kupferacetat spangrün färben, während Schleim in diesen Tropfen und dem entleerten Kanal nicht zu sehen und nachzuweisen ist. Auch beim Ganzfärben der Nadeln mit Sudanglyzerin oder Kupferacetat werden die Harzfäden gleichmäßig rotgelb resp. spangrün, geben also gleichmäßig Harz-, jedenfalls nicht Schleimreaktion, wie es nach Tschirch sein müßte, noch weniger sieht man, daß ein zartes Grenzhäutchen, »das nach seiner chemischen Reaktion in mancher Beziehung Ähnlichkeit mit der Kutikula

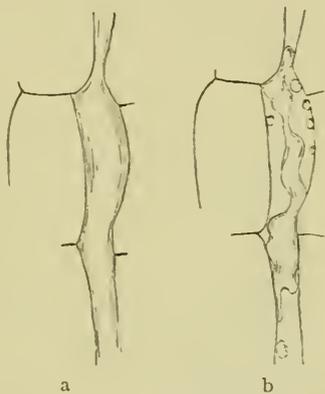


Abb. 3. *Abies grandis*. Stück eines Harzkanals aus einer 12 mm langen Nadel. a in frischem Zustand, b nach 26stündiger Behandlung mit Sudanalkohol.

hat«, »die resinogene Schicht mit scharfer Kontur nach innen abschließt« (l. c. 1124). Läßt man eine Blattanlage längere Zeit in Sudanalkohol, dem man Glycerin zusetzt, liegen, so löst sich im Laufe von ein bis zwei Tagen der harzige Inhalt allmählich auf, und man erhält dabei Bilder, die jeden Zweifel darüber, daß der Kanal nicht zuerst hauptsächlich mit Schleim erfüllt ist, ausschließen. Abb. 3a und b zeigen, wie beim allmählichen Verschwinden des Harzfadens neben dem Harzstrang in der Achse des Kanals noch Tröpfchen an den Wänden zurückbleiben, die,

¹) Z. B., wenn Nadeln direkt im Fixiermittel geköpft werden.

wie der Mittelfaden, in Sudan rot gefärbt sind und schließlich in der alkoholischen Lösung ganz verschwinden, was bei Schleimtröpfchen nicht möglich wäre. Entsprechende Bilder erhält man auch bei älteren und ausgewachsenen Nadeln, bei denen allerdings die resinogene Schicht rückgebildet sein oder ganz fehlen soll.

Auf zahlreiche andere hierher gehörige Beobachtungen (Behandlung junger und älterer Nadeln mit ges. Rohrzuckerlösung, verdünnten Alkalien, Salpeterlösungen usw.) braucht nicht weiter eingegangen zu werden, da die bereits angeführten zur Genüge dartun, daß die jüngeren wie die älteren Sekretgänge keinen Schleimbeleg enthalten können.

IV. Bau der erwachsenen Harzgänge.

Der Harzgang der Koniferen ist bekanntlich von einer doppelten Wandschicht eingeschlossen, deren innere Zellen als Epithel- oder Sekret-, deren äußere als Scheidenzellen (Schutzscheide nach Haberlandt, 1918, 484) bezeichnet werden. Die Epithelzellen sind bei erwachsenen Kanälen (*Abies*-Arten) langgestreckt, die Längswände mehr oder weniger stark gewellt (besonders ausgeprägt bei *A. grandis*), die Querswände an den oft T-artig verbreiterten Enden meist schräg gerichtet. Im Querschnitt des annähernd zylindrischen Harzkanals sind die Epithelzellen gestreckt, in der Richtung des Radius verhältnismäßig kurz und, jedenfalls im gefüllten Harzgang, nicht nach dem Kanallumen zu vorgewölbt. Die Radial- und inneren Tangentialwände sind gleich dünn, die äußeren Tangentialwände, welche an die Scheidenzellen angrenzen, ebenso wie deren Membranen, stärker verdickt. In den Epithelzellen sind bei *Abies*-Arten keine Tüpfel festzustellen, auch in den Scheidenzellen fehlen solche. Die Scheidenzellen sind meist wenig länger als die Epithelzellen, im Querschnitt aber größer, jedoch ihrerseits wieder beträchtlich kleiner als die Elemente des angrenzenden Mesophyllgewebes. Im Gegensatz zu den Epithelzellen sind die Scheidenzellen gradwandig und stoßen stets mit querstehenden Wänden aneinander.

Der Inhalt lebender Epithelzellen läßt sich auf Längsschnitten untersuchen, die man durch Abfegen mit einem feinen

Pinsel balsamfrei gemacht hat. Es zeigt sich (November), daß die ganzen Epithelzellen von einem homogenen, etwas milchig trüben Zellsaft erfüllt sind. In dem sehr dünnen Plasmaschlauch kann man, namentlich in der Nähe des Zellkerns, zahlreiche Mikrosomen und Plasmaströmung erkennen. Von irgendwelchem harzartigen Inhalt war in diesen lebenden Zellen nichts festzustellen.

V. Die Bildung des Harzbalsams in den jungen Harzkanälen.

Über die Entstehung der jungen Harzgänge wurde schon im Abschnitt III gesprochen¹. Es soll jetzt untersucht werden, was sich über den Ort der Bildung des Harzbalsams feststellen läßt.

Bei Blattanlagen von etwa 2—8 mm Länge, die von der Rückseite aus betrachtet wurden, waren die Sekretgänge gegen das Nadelende hin keulenförmig erweitert (s. o. S. 393, Fig. 1), während der ganze übrige Teil erst einen feinen kapillaren Kanal darstellte, der den Wölbungen und Zwickeln der Zellwände folgte. Harzbalsam war überall in den Gängen vorhanden, bildete aber, wie schon beschrieben (S. 394), zuweilen an den engsten Stellen noch keinen durchgehenden Harzfaden, sondern nur eine dichte Kette sehr kleiner Tröpfchen oder Fäden. Die Umrisse der Epithelzellen, die bemerkenswerterweise den übrigen Blattzellen im Wachstum vorausziehen, zeichnen sich, besonders nach dem Kanal zu, scharf ab. Ihr Inhalt läßt sich gleichfalls gut beobachten, da sie nur von wenigen Schichten durchsichtiger Zellen überdeckt sind, die große wasserklare Vakuolen enthalten. Bei genauer Einstellung des Profils der Epithelzellen zeigt sich, daß sie gleichmäßig von dichtem Plasma erfüllt sind, das durch zahlreiche winzige Körnchen fein punktiert erscheint. Irgendwelche größere, harzartige Tröpfchen wurden auch in diesen jungen, lebenden Epithelzellen nicht gesehen.

Ganz andere Bilder erhält man bei Untersuchung von Blattanlagen, die mit Chromsäure-Kupferacetat oder nur mit Kupferacetat fixiert sind.

In Nadeln von 5—8 mm Länge besteht die Wand des Harzganges im Querschnitt durchschnittlich aus 12—14 Epithelzellen,

¹) Die Entwicklung an Querschnitten ist zu vergleichen bei N. J. C. Müller (1867, 385).

die Scheide ungefähr aus ebensoviele in tangentialer Richtung etwas größeren Zellen. Beide Gewebearten haben noch dünne Wände und sind mit embryonalem Plasma gefüllt, das einen großen ovalen Kern umschließt. Der Sekretraum wird von einem kompakten Harzfaden eingenommen, der, wenn er infolge der Präparation verletzt ist, glasartige Bruchstellen zeigt (Taf. III, Fig. 7). Die Protoplasten der Epithelzellen, sind nur wenig kontrahiert, in der Längsrichtung jedoch stärker als der Quere nach. Auf der dem Sekretraum zugewendeten Seite bieten manche von ihnen ein auffallendes Bild. Hier liegen, zwischen Zellwand und Protoplasma, perlschnurartig aneinander gereiht, dicke, smaragdgrüne oder blaugrüne Tropfen, die in ihrer Struktur und Färbung, und wie unten gezeigt werden soll, auch in chemischer Beziehung, mit dem Harzfaden übereinstimmen (Taf. III, Fig. 1). So gleichmäßig und dicht wie in diesen abgebildeten Zellen findet man die Tropfenausscheidungen jedoch nur selten. Manchmal sind zugleich größere und kleinere Tropfen vorhanden, die ohne Regel nebeneinander liegen (Taf. III, Fig. 2 u. 3, Pr.-Profil-, Fl.-Flächenansicht der Epithelzellen), oder es sind auch einige wenige bzw. nur ein Tropfen zu sehen (Taf. III, Fig. 4 u. 7). In anderen Fällen sind die Ausscheidungen nicht rundlich, sondern mehr oder weniger lang wulstförmig; zuweilen zieht sich eine zusammenhängende Sekretschicht über den ganzen Protoplasten hin (Taf. III, Fig. 5). Dementsprechend erscheinen die Tröpfchen auf Flächenbildern der Epithelwand oft annähernd gleich groß und so dicht gedrängt, daß sie sich an ihrer Basis gegeneinander abplatten (und nur bei vorsichtiger höherer Einstellung abgerundet nebeneinander liegen), oder sie sind mehr oder weniger unregelmäßig gestaltet, stoßen dicht aneinander oder liegen über die Fläche des Protoplasten zerstreut (Taf. III, Fig. 3). Man wird diese Bilder dahin deuten dürfen, daß die größeren Harzmassen durch Zusammenfließen einzelner Tröpfchen entstanden sind.

Die eben geschilderten Verhältnisse sind bis hinab zu den kleinsten Blattanlagen mit eben beginnender Harzbildung anzutreffen.

Auf Querschnitten durch den Sekretgang junger Nadeln erscheinen die Epithelzellen, je jünger der Entwicklungsstand, desto stärker nach dem Lumen des Kanals zu vorgewölbt und

tragen auf dieser Wölbung ihrer Protoplasten einzelne oder mehrere Tröpfchen oder Wülste (Taf. III, Fig. 6 u. Taf. IV, Fig. 20).

Zwischen den Sekrettropfen führenden Zellen oder Gruppen von ihnen liegen, in größerer oder geringerer Anzahl, sekretfreie Zellen (Taf. III, Fig. 7), und man kann oft auf langen Strecken der Kanäle oder auf vielen Querschnitten vergebens nach den Tröpfchen suchen. Hierin wird der Grund dafür liegen, daß diese Ausscheidungen früher übersehen wurden.

Schon aus der Form der Tropfenausscheidungen und ihrem regelmäßigen Auftreten nur auf der inneren, dem Kanal zugewendeten Oberfläche des Protoplasten geht mit Sicherheit hervor, daß es sich nicht, wie den Angaben von E. Schwabach entgegengehalten wurde (Tschirch, 1906, 1131), um verschmierte Tröpfchen handeln kann. Im übrigen hat der Beobachter mancherlei Mittel zur Hand, um sich über Charakter und Lage solcher Tröpfchen Gewißheit zu verschaffen; u. a. genügt es mit der Präpariernadel auf das Deckgläschen zu drücken, um festzustellen, ob die Harztröpfchen sich hin und her bewegen (eventuell über die Zellgrenze hinweg), oder ob sie, wie in unserem Falle, dem Protoplasten fest angeheftet sind. Verwendet man mit Chromsäure-Kupferacetat fixiertes Material, dann ist, wie schon oben erwähnt, der Harzbalsam der Gänge zu spröden Fäden erstarrt und damit jede Möglichkeit eines Verschmierens von Tropfen aus dem Harzkanal ausgeschlossen.

Um Gewißheit darüber zu erhalten, daß die Tropfenausscheidungen keine anomalen Bildungen darstellen, wurden Knospen von Bäumen verschiedener Standorte und verschiedener Abies-Arten, gesunde, durch Verdunkelung etiolierte oder irgendwie erkrankte, untersucht. Überall zeigte sich dasselbe Verhalten: In Nadeln bis zu 8 mm Länge waren die Tropfen auf Längsschnitten stets leicht nachzuweisen, zeigten aber dasselbe unregelmäßige Auftreten und waren daher auf Querschnitten schwerer wie auf Längsschnitten nachzuweisen.

Die Sekrettröpfchen liegen also nicht im Innern des Protoplasten (Schwabach, 1899, 299), sondern stets in sehr auffälliger Weise auf dem nach dem Sekretraum gerichteten Oberflächenstück des Epithelprotoplasten, das als Sekretfeld bezeichnet werden mag (Ausnahme vgl. unten S. 407).

VI. Harztröpfchen in Epithelzellen älterer Nadeln.

Die Nadeln von *Abies pectinata* (*A. Nordmanniana*, *A. grandis*) können, wenigstens auf der Zweigunterseite, eine Länge von 30 (bzw. 35 oder 55) mm erreichen. Das Lumen ihrer Harzkanäle, das in Nadeln von etwa 2 mm einen Durchmesser von rund 20 μ aufweist, beträgt dann bei den drei *Abies*-Arten etwa 70, 80 bzw. 100 μ . Bei so bedeutender Zunahme des Harzinhaltes der Sekretgänge sollte man erwarten, daß die Harztröpfchen bei den in starkem Wachstum befindlichen Nadeln besonders deutlich hervortreten. Aber gerade das Gegenteil ist der Fall. Es kostet in größeren, in Streckung begriffenen Nadeln und noch mehr in ausgewachsenen, oft viel Mühe, die Sekrettröpfchen nachzuweisen. Auf Taf. III, Fig. 8 ist eine Sekretzelle aus einer 22 mm langen, einjährigen Nadel von *Abies Nordmanniana* im Profil, Taf. III, Fig. 9 von der Fläche gesehen, abgebildet. Die Sekrettröpfchen sind bei solchen Nadeln stets viel kleiner wie bei Nadeln von 2—8 mm Länge, und erscheinen auch schwächer, gewöhnlich blaß blaugrün gefärbt. In dazwischenliegenden Entwicklungsstadien sind die Tröpfchen beträchtlich größer und intensiver blaugrün. Große, flache Tropfen, die mehr oder weniger den ganzen Protoplasten überdecken, wurden bei älteren Nadeln niemals gefunden, auch niemals Epithelzellen, die so dicht mit Einzeltröpfchen übersät gewesen wären wie in den Taf. III, Fig. 1 abgebildeten Entwicklungsstadien.

VII. Harz in mehrjährigen Nadeln.

In zwei- und mehrjährigen Nadeln ist es noch schwerer, das Sekret in den Epithelzellen nachzuweisen. Es treten hier oft so kleine Tröpfchen auf dem Protoplasten auf, daß man nach Form, Färbung und auch bei Behandlung mit Reagentien oft nicht mehr mit Sicherheit sagen könnte, ob es sich um Harztröpfchen handelt. Zuweilen finden sich aber doch auch bei diesen Nadeln größere, sicher zu bestimmende Harztröpfchen, die mit den kleinsten durch Übergänge verbunden sind, und damit den Schluß zulassen, daß auch jene harzige Sekrete darstellen.

Der Charakter dieser Ausscheidungen weicht aber von den Tröpfchen in den jugendlichen Kanälen bedeutend ab. Statt der

homogenen Tröpfchen sind hier meist feine, scharf konturierte Ringe zu sehen, die in unregelmäßiger Größe und Anordnung (Taf. III, Fig. 11) über die Oberfläche der Epithelzellen verteilt erscheinen. In der Seitenansicht der Sekretzellen (Taf. III, Fig. 10) zeigt sich, daß die scheinbaren Ringe Querschnittsbilder von hohlkugelartigen Gebilden sind, die wie die typischen Sekrettröpfchen nur am Sekretfeld auftreten. Im Gegensatz zu den Tropfen bei den jugendlichen Zellen ragen diese Bläschen nicht über die Oberfläche des Plasmaschlauchs nach außen in den Raum zwischen Plasmaschlauch und Membran, sondern nach innen in den Vakuolenraum vor. Behandelt man solche Zellen mit Chloralhydrat, dann sieht man die Blasen zuerst etwas anschwellen, dann sich außen napfförmig öffnen (Taf. III, Fig. 12). In günstigen Präparaten läßt sich dieser napfförmige Bau, auch ohne Aufquellung mit Chloralhydrat, unmittelbar beobachten, doch kann man an den Chloralhydrat-Präparaten am besten erkennen, daß die Hohlkugeln dem Plasmaschlauch angehören. Meistens erscheinen sie ganz farblos, manchmal schwach blaßblau, zuweilen aber auch ebenso blaugrün gefärbt wie die Sekrettröpfchen in ausgewachsenen 1jährigen Nadeln. Nach 5 stündigem Aufenthalt solcher Präparate in Chloroform war der blaugefärbte Inhalt der Hohlkugeln verschwunden. Es sind also hier Harztröpfchen in vakuolenartige Ausstülpungen der Plasmahaut eingeschlossen. Über die Bedeutung dieser Gebilde wird weiter unten (Abschnitt IX) noch zu reden sein.

VIII. Mikrochemie der Sekrettröpfchen.

Bei der Besprechung des mikrochemischen Nachweises von Harzsubstanzen kommen übereinstimmend alle neueren Autoren zu dem Ergebnis, daß es keine spezifischen Reaktionen für diese Substanzen gebe (Tschirch, 1906, 1131, Tunmann, 1913, 231, Molisch, 1913, 150). Das hängt damit zusammen, daß nicht nur die Harze verschiedener Herkunft in ihrer Zusammensetzung voneinander abweichen, sondern daß Harze überhaupt keine chemisch einheitlichen Stoffe sind, vielmehr Gemenge aus zahlreichen, teils nicht flüchtigen, teils flüchtigen Substanzen. Im wesentlichen handelt es sich (Tschirch, 1906, Euler, 1908, 139, Czapek, 1921, Bd. III, 689) um Lösungen

der harzartigen Stoffe (Harzsäuren [Resinolsäuren], Harzphenole mit Gerbstoffcharakter [Resinotannole], Harzalkohole und -Phenole ohne Gerbstoffcharakter [Resinole] usw.) in Terpenen. Diese Terpenlösungen färben sich zwar mehr oder weniger mit einer Reihe von Reagentien (Alkanin, Sudan, Cyanin, Kupferacetat usw.), aber dieselben Reagentien färben auch fette Öle, Wachse und einige andere Pflanzenstoffe.

Trotzdem kann man gerade bei Koniferenharzen unter den hier vorliegenden Umständen auf mikrochemischem Wege zu einem befriedigenden Ergebnis kommen. Die Koniferenharze bestehen nämlich nach Tschirch (1906, I) fast ausschließlich aus freien Harzsäuren, und diese bilden mit Kupferacetat grüne Kupfersalze (Tschirch, 1906, 1132). Erhält man bei den Sekrettröpfchen mit Kupferacetat Farbreaktion, und stimmt die Substanz in ihren Löslichkeitsverhältnissen usw. mit denjenigen des Harzes überein, so sind Wachse schon ausgeschlossen und es gilt nur noch nachzuweisen, daß die Tröpfchen nicht aus fetten Ölen bestehen, d. h. vor allem, daß sie nicht mit Kali-Ammoniak in der Kälte Verseifungskristalle bilden. Ergibt sich dabei außerdem, daß die Sekrettröpfchen in den Epithelzellen und die Harzfäden sich im wesentlichen verschiedenen anderen Reagentien gegenüber gleich verhalten, dann wird man die Harznatur der Sekrettröpfchen nicht anzweifeln können.

Daß die Kupferacetatreaktion positiv ausfällt, haben die angeführten Beobachtungen gezeigt. Es hat sich dabei auch ergeben, daß die Kupferacetatfärbung ungleichmäßig ist: in den jungen Epithelzellen erschienen die Sekrettröpfchen fast so intensiv grün wie die Harzfäden, in älteren Stadien jedoch nur noch blaugrün oder hellblau. Nun ist den Angaben von E. Schwabach entgegengehalten worden, daß die von ihr in den Epithelzellen beschriebenen Tröpfchen nicht Harz, sondern fettes Öl seien, weil sie sich mit Kupferacetat »erheblich weniger intensiv« wie die Harztröpfchen färben (Tschirch, 1906, 1132, Tunmann, 1913, 234). Dieser Einwand kann nicht aufrechterhalten werden. Wenn die Blaufärbung durch Resinolsäure-Kupfersalze bedingt ist, hängt ihre Intensität von der Art oder dem Prozentgehalt des Balsams an diesen Harzsäuren ab. Findet man

also die Färbung der Sekrettröpfchen weniger intensiv als diejenige der angrenzenden Harzfäden, so wird man auf einen Unterschied der beiden Sekretformen im Gehalt an Resinolsäuren schließen müssen. Es ist bekannt, daß solche Verschiedenheiten bei ein und derselben Pflanzenart vorkommen. Nach Franchimont (1871, 429) ist das Harz in der Rinde mancher Koniferen nicht mit demjenigen ihres Holzes und ihrer Nadeln identisch, und Ducommun (1885) fand, daß im Harz des Stammes, der Wurzeln und so weiter derselben Pflanze verschiedene Harzsäuren auftreten. So wäre es z. B. denkbar, daß in den jüngsten Entwicklungsstadien mehr eigentliche Harzsubstanzen, in den älteren mehr Terpene oder andere Stoffe, die sich mit Kupferacetat nicht grün färben, aus den Epithelzellen in die Sekretgänge einwandern. Dazu kommt noch, wie schon oben bemerkt, daß in den auf dem Objektträger gefärbten Harzschlieren die dünnen Stellen auch nur helle Tönung zeigten, daß also der Farbenton durch die Dicke der Balsamschicht bestimmt wird. Auch an Harzfäden, die infolge der Präparation zerbrochen sind und dünne Splitter gebildet haben, kann man beobachten, daß diese nur hellbau aussehen. Man kann somit sagen, daß die Tröpfchen, auch wenn sie nur blaß gefärbt sind, doch die gleiche Farbenreaktion wie die Harzfäden anzeigen können.

Wie die Prüfung auf eventuelles Vorhandensein von Resinolsäuren positiv, so fällt diejenige auf fettartige Körper bei den Harzfäden wie bei den Sekrettröpfchen negativ aus. Der zuverlässigste Weg zum Nachweis von fetten Ölen ist die Verseifungsmethode (Molisch, 1891, 10, 1921, 118, Tunmann, 1913, 154). Bei Zusatz von Kali-Ammoniak verlieren die Harzfäden augenblicklich ihre grüne Färbung, und es treten in ihrem Innern zahlreiche kleine Gasbläschen auf, die den Harzkörper zuerst schwärzlich gefärbt erscheinen lassen. Diese Bläschen fließen langsam zu größeren Blasen zusammen, bis der Harzkörper schließlich in eine homogene großblasige Masse umgewandelt ist. Die Gasbläschen verschwinden im Laufe von 24 Stunden, im übrigen aber verändert sich die Substanz nicht und bildet auch nach tagelangem Liegen in Ammoniak-Kalilauge keine Seifenkristalle.

Das Verhalten der Sekrettröpfchen in Ammoniak-Kalilauge entspricht demjenigen der Harzfäden. Im ersten Augenblick

schwellen die Tröpfchen zu Bläschen von etwa halb mal vergrößertem Durchmesser an, dann werden sie wieder kleiner, bis sie nur noch einen punktförmigen Hohlraum umschließen und bleiben zuletzt, wie die Harzfäden, unverändert liegen, bilden also auch an der Oberfläche keine Seifenkristalle, woraus mit Sicherheit hervorgeht, daß sie nicht aus fetten Ölen bestehen. Das bestätigen auch die übrigen Reaktionen. In konzentrierter Schwefelsäure sind fette und ätherische Öle unlöslich (Tunmann, 1913, 167), die Harzfäden dagegen lösen sich leicht unter vorübergehender starker Bräunung, ebenso auch die Sekrettröpfchen, bei denen allerdings, bei der geringen Größe der Tröpfchen, eine braune Verfärbung nicht beobachtet werden konnte. Fette sind in Alkohol nahezu unlöslich, Harzfäden und Sekrettröpfchen aber verschwinden mehr oder weniger leicht schon in 70% Alkohol. A. Meyer (1883) hat zur Unterscheidung von Fetten und ätherischen Ölen (wozu im weiteren Sinne auch die Balsame zu rechnen sind) Chloralhydratlösung empfohlen, die Fette unverändert läßt, ätherische Öle dagegen auflöst. Harzfäden und Sekrettröpfchen lösen sich, wenn auch nur langsam, in Chloralhydrat, lassen also auch in diesem Verhalten erkennen, daß sie nicht fettartiger Natur sind.

Diese beiden Produkte haben nun noch eine besondere Eigentümlichkeit gemein, welche in auffallender Weise zeigt, daß sie ihrer Natur nach gleichartig sind.

Bei Abies-Nadeln, welche mit Kupferacetat fixiert sind, findet man sowohl in ganz jungen Entwicklungsstadien (Nadeln von etwa 1 mm Länge) wie in älteren und erwachsenen Exemplaren, daß der grüne Harzfaden von einer äußerst feinen, farblosen Hülle wie von einer Manschette umgeben ist (Taf. III, Fig. 7). Gewöhnlich ist der eigentliche Harzfaden etwas zusammengezogen, so daß sich diese Manschette sowohl von der Wand des Harzkanals wie von dem grünen Harzfaden deutlich abhebt. Es läßt sich nun zeigen, daß diese Hülle nicht einer natürlichen Oberflächenschicht des Harzfadens entspricht und somit auch nicht etwa die »resinogene Schicht« sein könnte. Untersucht man nämlich Nadeln, die geköpft wurden, und einen Teil ihres Balsams haben ausfließen lassen, nach Fixierung mit Chromsäure-Kupferacetat, so findet man den Inhalt des Sekretganges

in kurze Harzfadenstücke zerfallen, die an ihren Enden tropfenartig abgerundet sind. Diese Stücke sind auch an den abgerundeten Enden von derselben farblosen Hülle eingeschlossen, die man durch Aufdrücken auf das Deckgläschen wie Eierschalen zerdrücken kann. Das beweist, daß die hüllibildende Substanz ein Oberflächenhäutchen ist, das jeder Harztropfen an der Grenze zwischen dem Harz und dem einschließenden Medium (wäßrige Flüssigkeit?, s. oben S. 394—395) bildet.

Dieses Häutchen zeigt ganz andere Reaktionen wie das eigentliche Harz. Wie schon gesagt, färbt es sich mit Kupferacetat nicht. Es löst sich ferner nicht in verd. oder absolutem Alkohol, auch nicht nach mehrtägiger Einwirkung, sondern schrumpft oder fältelt sich dabei etwas ein. In Äther quillt die Hülle manchmal im ersten Augenblick an einigen Stellen blasig auf, bleibt aber dann gleichfalls, auch nach 48stündiger Behandlung, ungelöst. Ersetzt man in einem Alkoholpräparat den Alkohol durch Wasser, so tritt keine Spur von Quellung auf, ein Beweis dafür, daß es sich nicht um eine Schleimschicht handelt. Bei Zufügen von Chloralhydrat schmilzt jedoch das Häutchen, indem es immer dünner und weniger lichtbrechend wird, allmählich ab, jedoch ohne daß zuvor irgendwelche Quellung erkennbar wird. Ähnlich wirken NH^3 und KOH .

Die Reaktionen zeigen, daß die Hülle von ganz anderer chemischer Beschaffenheit ist als die eigentliche Harzsubstanz und weiter, daß es sich nicht um Schleimschicht handeln kann, erlauben aber nicht zu bestimmen, welche chemischen Körper hier vorliegen.

Dieselbe Hülle läßt sich nun zuweilen auch bei den Sekrettröpfchen nachweisen. Die Auflösung des grüngefärbten Bestandteiles der Sekrettröpfchen beginnt allerdings bei Zufügen von Alkohol 96% erst nach einigen Minuten, weil der Alkohol erst durch die Membranen der Epithelzellen wandern muß. Es bleibt aber dann, wie bei den Harzfäden, ein farbloses, dünnes Häutchen zurück, das in Alkohol und Äther unlöslich ist, sich in Chloralhydrat dagegen schnell löst (Taf. IV, Fig. 13).

Diese Häutchen sind nicht zu verwechseln mit den oben beschriebenen Kugeln oder napfförmigen Hüllen der Harztropfen. Von diesen unterscheiden sie sich nicht nur durch ihre Lage —

sie ragen über die Plasmahaut hervor, sind nicht in sie eingesenkt — sondern vor allem durch ihr Verhalten gegenüber Chloralhydrat, worin jene Hohlkugeln, wie gesagt, unlöslich sind.

IX. Die Bildung der Sekrettröpfchen in den Epithelzellen.

Den besten Einblick in die Entstehungsweise der geschilderten Harztröpfchen geben Präparate jugendlicher Zellen, bei denen der Protoplast noch den ganzen Zellraum gleichmäßig erfüllt, also noch keine größeren Vakuolen ausgebildet hat. Unsere Abbildungen (Taf. III, Fig. 1—7) zeigen bemerkenswerterweise, daß dabei die Tröpfchen nur auf dem Teil der Oberfläche des Protoplasten, welche an den Sekretbehälter angrenzt (Sekretfeld), gebildet werden. Ganz ähnliche Verhältnisse hat Hanstein für die Harzbildung durch die Colleteren von *Viola althaiica* abgebildet (l. c. Fig. 110—12). Hier sitzen die Harztröpfchen auch auf der Oberfläche des Protoplasten im Begriff, sich aus demselben »herauszuarbeiten«, wie Hanstein sich ausdrückt, und im Inneren fehlt das Sekret, wie aus den Abbildungen hervorgeht, wenn es auch nicht ausdrücklich erwähnt wird. Dagegen hat E. Schwabach die Tropfen im Protoplasten gezeichnet und beschrieben, nur vereinzelt an der Oberfläche desselben abgebildet, ohne im Text darauf einzugehen. Verf.n hat jedoch nur schematische Querschnitte dargestellt, an denen die Lage der Tröpfchen nicht so auffallend hervortritt wie an Längsschnitten. Daß diese Abbildungen, wenigstens soweit sie *Abies*-Nadeln betreffen, nicht genau gezeichnet wurden, läßt sich auch daran erkennen, daß die Epithelzellen erwachsener Kanäle mit kompaktem Protoplasten wiedergegeben sind, während in Wirklichkeit dort nur ganz dünne Protoplasmaschläuche vorkommen.

Nun gibt E. Schwabach außerdem an, daß einige Male die Epithelzellen deutlich gefärbt waren und zeichnet den ganzen Inhalt dieser Zellen homogen getönt, ohne Andeutung plasmatischen Inhalts. Ganz ähnliche Bilder habe ich einmal bei einer im Mai mit Osmiumsäure-Kupferacetat gefärbten 2 mm langen Nadel von *Abies Nordmanniana* gefunden (Taf. IV, Fig. 14). Diese Bilder gehören aber offenbar zu pathologischen Zuständen, wie aus Taf. IV, Fig. 15, die derselben Nadel ent-

stammt, hervorgeht. Bemerkenswert ist, daß in anderen Schnitten desselben Kupferacetat-Präparates der ganze Inhalt der Epithelzellen gelblich, im übrigen ebenso homogen lichtbrechend aussah, wie die grüngefärbten Massen und weiter, daß in einigen Fällen der verharzte Inhalt hellblau, in andern dunkelsmaragdgrün gefärbt war. Man kann daraus wohl schließen, daß das eigentliche, grüngefärbte Sekret in diesem Falle aus einer gelben Vorstufe hervorgegangen ist. Diese Annahme findet darin eine Stütze, daß in einem anderen, auch nur einmal zur Beobachtung gekommenen Fall, Sekrettröpfchen im Inneren des Protoplasten in ähnlicher Weise auftraten. Hier waren in Epithelzellen einer ebenfalls nur 2 mm langen Nadel (*Abies Nordmanniana*) blaugefärbte Sekretkugeln in scharf umrissenen Vakuolen (Taf. IV, Fig. 16) zu sehen und in anderen Schnitten innerhalb ähnlicher Vakuolen der gleichen Größe, wieder wie oben, nur gelbgefärbte, homogene, mehr oder weniger zackig kontrahierte Inhaltströpfchen (Taf. IV, Fig. 17). Auch diese vereinzelt Befunde von harzführenden Vakuolen im Inneren der Protoplasten müssen als anomal aufgefaßt werden, da ihnen mehrere hundert Zellbilder von *Abies*-Nadeln entgegenstehen, bei denen das Harz nur auf der Oberfläche angetroffen wird.

In Nadeln von 1 bis 1,5 cm Länge (*Abies Nordmanniana*), die noch in Streckung begriffen sind, deren Epithelprotoplasten aber große Vakuolen umschließen, sitzen die Sekrettröpfchen außerhalb der feinen, scharfen Linie des Plasmaschlauches, also wieder zwischen diesem und der Epithelzellmembran. Die Tröpfchen haben einen Durchmesser, der 2- bis 3 mal so groß als der Plasmaschlauch dick ist, und sind auch gegen den Plasmaschlauch abgerundet, eine Einbettung in das Plasma ist also auch hier nicht vorhanden (vgl. Taf. III, Fig. 8).

Es erhebt sich aber die Frage, ob die Tröpfchen auch im lebenden Protoplasten in gleicher Weise auftreten oder ob die kuppenartige Ausscheidung auf den Sekretfeldern durch die Fixierung bedingt ist. In lebenden Zellen ist natürlich der Protoplasmaschlauch der Zellmembran fest angepreßt, es können also Sekrettröpfchen nicht frei auf der Oberfläche der Hautschicht aufsitzen. In den zur Beobachtung gekommenen lebenden Epithelzellen konnte auch niemals dergleichen beobachtet werden. Der Inhalt der jungen

Zellen war wasserklar, nur von sehr kleinen, lichtbrechenden Körnchen gleichmäßig durchsetzt, es waren aber keinerlei Tröpfchen zu sehen, die den grünen Sekrettröpfchen der Kupferacetat-Präparate entsprechen konnten. Auch nach längerem Liegen in Nähr- oder Zuckerlösung oder bei Plasmolyse kam nichts Ähnliches zum Vorschein. Da, wie oben bemerkt, viele sekretfreie Epithelzellen vorkommen, wäre ein methodisches Suchen im Sommer nach sekrethaltigen Zellen nötig gewesen, was ich leider versäumt habe. Dagegen konnte ich im Herbst an den Rindenkanälen einjähriger Zweige von *Abies grandis* feststellen, daß in den lebenden Epithelzellen das Protoplasma der Zellwand dicht anlag. Der Inhalt der Zellen war hier undurchsichtig, es ließen sich aber, wenn auch nur undeutliche lichtbrechende Tröpfchen erkennen, die in größeren oder kleineren Abständen nebeneinandergereiht und in das wandständige Plasma eingebettet schienen. Als diese Zellen mittels KNO_3 vorsichtig plasmolysiert wurden, traten die Harztröpfchen sofort stark lichtbrechend und scharf konturiert hervor. Sie wurden von dem zurückweichenden Sekretfeld, an dessen Oberfläche sie hafteten, mitgenommen und lagen auf demselben in gleicher Weise nebeneinander, wie in den Taf. III, Fig. 1 abgebildeten jungen Nadelepithelzellen.

Die fixierten Epithelzellen zeigen somit im wesentlichen dieselbe Form und Lagerung der Sekrettröpfchen wie die plasmolysierten; die Fixierung hat also nicht erst die Bildung der einzelnen Tröpfchen bewirkt; vielmehr sind diese normalerweise schon in der lebenden Epithelzelle vorhanden; allerdings in die Oberfläche des plastischen Zelleibes eingesenkt, nicht über sie hervorragend. Hin und wieder findet man auch fixierte Protoplasten, bei denen sehr kleine Sekrettröpfchen nicht frei auf der Oberfläche sitzen, sondern in sie eingesenkt sind wie bei dem Taf. IV, Fig. 18 dargestellten Präparat, das aus einer 4 mm langen Nadel (Knospe von *Abies Nordmanniana*) stammt. Man braucht sich jetzt nur vorzustellen, daß statt des kompakten Protoplasten eine dünne Plasmahaut vorhanden ist, welche die zentrale Vakuole umschließt, dann kommt man zu den in Abbildung 11, Taf. III wiedergegebenen Verhältnissen bei mehrjährigen Nadeln, bei denen an Stelle der in

das kompakte Plasma eingesenkten kugeligen Tröpfchen nur kugelige Bläschen von der Plasmahaut nach innen in den Vakuolenraum vorragen. Diese Bläschen müssen als vakuolenartige Gebilde gedeutet werden, die das Sekret umschließen, zuweilen aber in alten Nadeln, wie z. B. der Fig. 10, 11, Taf. III abgebildeten Zelle, anscheinend nur noch mit einer farblosen Flüssigkeit gefüllt waren, da sie keine Kupferacetat-Färbung mehr erkennen ließen. Bei Behandlung mit Chloralhydrat öffnen sie sich nach außen napfartig, woraus zu schließen ist, daß sie im Verlauf der Sekretion den eigentlichen harzigen Inhalt durch Aufreißen am Scheitel frei werden lassen. Solche Vakuolen dürfen als die Bildungsstätten des Balsams betrachtet werden. In alten Zellen scheint der dünne Plasmaschlauch so schnell fixiert zu werden, daß er die napfartigen Einsenkungen behält, in jüngeren Zellen reißen die Vakuolen auf, die Tröpfchen treten frei nach außen und der Plasmaschlauch oder kompakte Protoplast glättet sich, wie das bei der Plasmolyse der lebenden Zellen beobachtet wurde. Die Annahme, daß es sich um echte Vakuolen handelt, findet eine Stütze in dem oben geschilderten anomalen Fall von Harzvakuolen im Innern des Protoplasten (Fig. 16, Taf. IV). Nach Pfeffer ist diese Art der Entleerung von Vakuolen eine weit verbreitete Erscheinung. Pfeffer beobachtete an Plasmodien die Ausstoßung von Kristallen, Öltröpfchen usw., beschrieb ähnliche Vorgänge von umhüteten Zellen und führt auch die Ausscheidung von Oxalatkristallen in Blattzellen von *Citrus Aurantium* an, die in Vakuolen innerhalb des Plasmas gebildet, an die Oberfläche »spediert« und dann durch Ausscheidung von Zellulose in die Zellwand eingebettet werden. (Pfeffer 1891, 179, Wakker 1888, 179, Kohl 1889, 88.) Vielleicht gehört hierher auch die zuerst von Berthold (1886, 14) gefundene, später von R. Müller (1905, 292; vgl. Haberlandt 1918, 489, Fig. 217) genauer untersuchte Bildung von Öl in großen Vakuolen, die durch ein besonderes Verbindungsstück an die Zellwand befestigt werden. (Rhizomschuppen von *Asarum europaeum* usw.) Die kleinen, oberflächlich im Protoplasten liegenden Vakuolen müssen, wie schon erwähnt, beim Fixieren ebenso wie bei Plasmolyse zerreißen und das Sekrettröpfchen frei über die Oberfläche treten lassen. So ist es zu verstehen, daß in Blattanlagen, die in Streckung begriffen sind

und in älteren Nadeln in der Regel nur über die Oberfläche ragende Tröpfchen gefunden werden.

In jüngeren Anlagen, bis zu etwa 8 mm Blattlänge, sind aber außerdem sehr dicke oder flache, oft große Teile des Protoplasten bedeckende Tropfen vorhanden. Es kann kein Zweifel bestehen, daß solche Sekretmassen durch Zusammenfließen kleinerer Tröpfchen gebildet werden. Aus Bildern wie Fig. 5, Taf. III, die zeigen, daß der ganze Protoplast kuppelförmig von dem Sekret bedeckt ist, geht mit Sicherheit hervor, daß die großen Sekretansammlungen nicht mehr in Vakuolen eingeschlossen sind, sondern frei auf dem Sekretfeld liegen.

Es sei betont, daß die hier wiedergegebene Auffassung von der Bildung der Sekrettröpfchen in Vakuolen und der Ausstoßung der Tröpfchen durch Aufreißen der Vakuolenwand nicht direkt beobachtet, sondern nur aus den verschiedenen Fixierungsbildern erschlossen ist. Es wären auch andere Erklärungen dieser Bilder möglich. Man könnte z. B. annehmen, daß das Harz in nicht nachweisbaren molekularen Mengen diffus im Plasma entstehe, zur Hautschicht des Protoplasten wandere und dort an getrennten Stellen nach und nach in Tropfenform ausgepreßt werde, oder auch, daß das Harz überhaupt erst außerhalb des Protoplasten aus dorthin ausgeschiedenen Substanzen gebildet werde. Letztere Annahme widerspricht so sehr allen biologischen und chemischen Erfahrungen, daß wir sie außer Betracht lassen können. Bei der ersten wiederum wäre es unverständlich, warum das Sekret, das durch die Hautschicht nach außen gewandert ist und sich zwischen Hautschicht und Zellwand angesammelt hat, nicht wieder in den Protoplasten zurückgepreßt wird, sondern den, größeren Widerstand bietenden, Weg durch die Zellmembran einschlägt. Nimmt man dagegen eine Bildung des Sekrets in Vakuolen an der Oberfläche des Protoplasten an, so erhält man eine annehmbare Vorstellung von dem Verlauf der Sekretion: Die chemischen Reaktionen innerhalb der Vakuole liefern die Energie, welche die Vakuolen gegen den Widerstand des Turgordrucks wachsen und schließlich zerreißen läßt (Pfeffers »Ausscheidungskraft« 1892, 177), und die undurchlässige Vakuolenhaut bildet das Widerlager beim Durchpressen des Sekrets durch die Membran. Wie dem

auch sei, als wesentlich bleibt die Tatsache bestehen, daß größere Harztröpfchen nur auf der Oberfläche des Protoplasten auftreten.

Die Bildung der Sekrettröpfchen zeigt noch eine andere Besonderheit. Sowohl in den jüngsten Blattanlagen wie in älteren sich streckenden und in ausgewachsenen ein- und mehrjährigen Nadeln finden sich die Sekretropfen immer nur in einem Teil der Epithelzellen. Die Tröpfchen führenden Zellen können in Gruppen beisammen oder einzeln liegen und weisen untereinander wieder quantitative Verschiedenheiten auf, indem die Protoplasten bald dicht mit Sekret bedeckt sind, bald nur ein oder wenige Tröpfchen auf dem Sekretfeld tragen (Fig. 1, 2, 4, 7, Taf. III). Da keinerlei Gesetzmäßigkeit in der Anordnung der aktiven Sekretfelder zu sehen ist, muß man schließen, daß die Epithelzellen unabhängig voneinander periodisch tätig sind, daß sie eine Zeitlang die sekretbildenden Stoffe ansammeln, austreten lassen und dann wieder zur Bereitung neuer Sekretmassen schreiten. Eine ähnliche, periodische Anhäufung von Sekretgranulis ist allgemein für die tierischen Drüsenzellen, hier aber innerhalb des Protoplasten, nachgewiesen.

X. Durchtritt des Sekrets durch die Membran.

Der Durchtritt von Sekrettröpfchen durch die Membran der Epithelzellen könnte nicht direkt beobachtet werden. Versucht wurde die Beobachtung an Längsschnitten durch Harzkanäle frischer Nadeln, die durch Fegen mit einem feinen Pinsel möglichst von Balsam befreit waren und längere Zeit in Nährlösung oder schwacher Rohruckerlösung kontrolliert wurden, außerdem an ähnlichen Schnitten, die plasmolysiert oder an der Luft liegen gelassen und in Wasser wieder turgeszent gemacht worden waren: ein Austreten von Harztröpfchen aus den Epithelzellen stellte sich dabei nicht ein.

Es blieb also nur übrig, den Vorgang an fixierten Präparaten zu untersuchen. Fig. 19 und 20, Taf. IV, zeigen kleine auf beiden Seiten der Epithelwand aufsitzende blau gefärbte Sekrettröpfchen. Diese Tröpfchen sind bei der Kontraktion des Protoplasten der Epithelzellen einerseits und derjenigen des Harzfadens andererseits an der Epithelwand hängen ge-

blieben. Die Härtung des unverletzten Sekretganges der Nadeln mittels Chromsäure-Kupferacetat bürgt dafür, daß die Tröpfchen nicht durch die Präparation entstanden sind. — Ein weiteres Mittel zur sicheren Entscheidung bietet das Auftreten der oben geschilderten »Manschette«. Die besonders auffallende Fig. 5, Taf. III, entstammt einem Harzkanal eines 9 mm langen Blattes, in dem vereinzelte isolierte Sekrettröpfchen der Kanalwand aufsaßen, welche nach ihrer Lage und Gestalt die Vermutung nahelegten, daß es sich um ausgepreßte Sekrettröpfchen vor der Verschmelzung mit dem Harzfaden handele. Bei Zufügung von Alkohol-Äther zeigte sich in der Tat, daß die farblose Manschette an der Stelle, an welcher die Sekrettröpfchen gelegen hatten, Einbuchtungen von der Form und Größe des Tröpfchens aufwies. (Fig. 5a, Taf. III.) Das ist nur dadurch möglich, daß diese Tröpfchen vor dem Fixieren noch nicht mit dem Balsam des Harzkanals verschmolzen waren. Die zu beiden Seiten der Epithelmembran anhaftenden bzw. isoliert vor ihr liegenden Tröpfchen bedeuten somit Sekretteilchen, die im Eintreten bzw. im Austreten aus der Membran begriffen sind. Es gelang mir allerdings ebensowenig wie Hanstein, harzige Bestandteile innerhalb der freilich sehr dünnen Epithelmembran nachzuweisen. Da aber das Harz (siehe unten S. 414) in emulgierter Form oder in sehr feiner Verteilung die Membran durchwandert, kann man nicht wie Hanstein erwarten, in einer solchen, Balsam bergenden, dünnen Membran stärkere Lichtbrechung oder Blaufärbung mit Kupferacetat zu finden.

Das Anheften von Sekrettröpfchen an der Epithelmembran im Verein mit der Tatsache, daß der gleiche Balsam im Innern der Epithelzellen wie im Harzkanal auftritt und der weiteren Feststellung, daß im Lumen des Sekretganges weder resinogene Schicht noch plasmatische Bestandteile oder dergleichen vorhanden sind, zwingt zu dem Schluß, daß der Balsam in den Epithelzellen gebildet und durch die Epithelmembran in das Kanallumen gepreßt wird.

Mit welchen Mitteln die Durchwanderung erreicht wird, bedarf besonderer Untersuchung. Die Schwierigkeit des Problems liegt bekanntlich darin, daß die ölartige Harzsubstanz eine

wasserdurchtränkte Membran passieren muß (Tschirch 1906, 1095). Wenn auch Schmidt (1891, 300) in Pfeffers Laboratorium nachweisen konnte, daß fette Öle, besonders wenn sie von freien Fettsäuren begleitet sind, und später Heller (1904, 1), daß ätherische Öle die Zellulosehäute lebender Membranen passieren, so gelang es doch Heller gerade beim Harz nicht, eine künstliche Einführung in lebende Zellen zu erzielen. Heller hatte nach dem Vorgang von Schmidt (l. c. 320) in Längsspalten durch das unterste Internodium von etiolierten Keimlingen Fließpapierstreifen eingeschoben, die mit den zu untersuchenden fetten Ölen usw. getränkt waren. Den Harzbalsam stellte er sich als 40proz. Lösung von Lärchenterpentin in Terpentinöl, Olivenöl und Paraffin her. Wenn auch Olivenöl in die lebenden Zellen eindrang und Terpentin die Zellen abtötete (Paraffin verhielt sich indifferent), so wanderte doch niemals das gelöste Harz mit durch die Membran. Es war nun möglich, daß die Zusammensetzung des künstlich hergestellten Balsams in wichtigen Punkten von der natürlichen abwich und an dem negativen Ergebnis dieser Versuche schuld war. Ich versuchte daher Bedingungen zu schaffen, die den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe kommen. Köpft man eine Koniferennadel in der Luft durch einen scharfen Schnitt, so dringt der aus den angeschnittenen Sekretgängen fließende Balsam, manchmal nach vorübergehender kuppenartiger Ansammlung auf der Schnittfläche, sofort von dieser aus in die Interzellularen des Blattmesenchyms, erfüllt dieselben unter mehr oder weniger vollständiger Verdrängung der Luft, indem er auf der ganzen Nadelbreite gleich schnell eindringt (durchschnittlich etwa 1 mm weit), und macht den imprägnierten Teil der Nadel durchscheinend. Der Balsam steigt, ähnlich wie bei den Versuchen von Heller, in den Interzellularen auf und hat Gelegenheit, von hier aus in die Mesophyllzellen einzudringen. Es handelt sich aber nicht, wie bei Heller, um eine künstlich hergestellte Lösung von Harzterpentin usw., sondern um den unveränderten natürlichen Balsam, der ja sofort aus der Wundstelle in die Interzellularen hinüberfließt. Nadeln, deren Spitzen auf diese Weise mit Balsam imprägniert waren, wurden verschieden lange in eine feuchte Kammer oder in Wasser gelegt, dann

frisch oder nach Fixierung mit Osmiumsäure-Kupferacetat oder Chromsäure-Kupferacetat¹ untersucht. Jedoch auch in dieser Anordnung mißglückten die Versuche, Balsam in die lebende Zelle einzuführen. Das Harz in den Interzellularen war stets schön blau gefärbt, innerhalb der Zellen waren aber keine Sekrettröpfchen nachzuweisen².

Es läßt sich nun aber durch einen anderen einfachen Versuch wenigstens zeigen, daß Harz in viel Terpentinöl gelöst die Membran durchwandern kann. Bringt man nämlich Schnitte mit Harz führenden Epithelzellen aus Wasser in Terpentin, so verschwindet das Harz aus den Zellen, und bei nachheriger Behandlung mit Chromsäure-Kupferacetat tritt keine Blau- oder Grünfärbung ein. Das Terpentin ist also hier durch die wasserhaltige Membran in die Zelle eingewandert und dann der Balsam durch die terpeningetränkte Membran hinaus diffundiert. Trotz unserer eben angeführten negativen Versuchsergebnisse zeigen sich hier Bedingungen, unter denen der Balsam (Harz plus Terpentin) als solcher die Membran durchwandern kann (vgl. auch Pfeffer, 1897, I, 85). Aber wie nach Schmidt fette Öle nur dann leicht die Membran durchdringen, wenn sie freie Säuren usw. enthalten, so könnten auch die Harze durch in der Membran enthaltene Stoffe emulgiert werden und in dieser Form durch die Zellmembran wandern. Allerdings müßte dann beim Austritt in den Harzkanal wieder eine Entmischung folgen, die schwer zu erklären wäre.

Bei den Versuchen von Schmidt hatte sich ergeben, daß die ölsäure- oder fettsäurehaltigen Neutralfette von den Interzellularräumen aus ohne weiteres durch die Membran in die lebende Zelle eindringen. Es handelt sich hier also um einen diosmotischen Vorgang, der als solcher die Durchwanderung der wasserhaltigen Membran bewirkt. Es ist kein Grund zu der Annahme vorhanden, daß die Wanderung des Balsams durch die Epithelmembranen der Harzkanäle nicht in derselben

¹) Chromsäure-Kupferacetat eignet sich für diese Versuche nicht, da die Chromsäure die Protoplasten der Mesophyllzellen stark angreift.

²) Bei den Chromsäurekupferacetat-Präparaten fanden sich Zellen mit anscheinend zwischen Protoplasma und Membran eingedrungenen grünen Sekretmassen, die sich aber als durch Chromsäure zerstörte Chloroplasten erwiesen.

Weise erfolge. Die Ansammlung von Sekretmassen zwischen Protoplast und Zellmembran zeigt aber, daß bei der Durchwanderung noch ein anderer Faktor mitwirkt. Die Sekretansammlungen werden von der unter Turgordruck stehenden Plasmahaut gegen die Zellwand gepreßt, der auf sie wirkende Druck muß also die Durchwanderung der Membran beschleunigen und wohl auch beitragen, den Gegendruck, den der schon im Sekretgang vorhandene Balsam ausübt, zu überwinden.

Es ist auffallend, daß sich das Sekret zwischen Zellwand und Protoplasten in Tropfen anhäufen kann. Nach den Beobachtungen von Pfeffer werden von Myxomyceten-Plasmodien wie von Protoplasten, die mit Zellhaut umgeben sind, feste Partikelchen, Öltröpfchen usw. vermöge der physikalischen Beschaffenheit des Plasmas rein mechanisch aufgenommen. Pfeffer betont aber, daß die Bewegungstätigkeit des Plasmas die Aufnahme bewirke oder befördere, und vielleicht ist es bei den Sekrettröpfchen der Harzkanäle die Unbeweglichkeit der Hautschicht, die bedingt, daß die Öltröpfchen nicht eindringen, obwohl sie unter Turgordruck gegen die Plasmahaut gepreßt werden. Vorbedingung für das Auspressen ist aber die Undurchlässigkeit der Hautschicht für das Sekret, die wie oben angeführt, mit dessen Entstehung in Vakuolen in Einklang stehen würde.

Die Ansammlung von Sekrettröpfchen zwischen Hautschicht und Zellwand, welche anzeigt, daß die Bildung des Sekrets im Protoplasten schneller erfolgt als dessen Auspressung durch die Membran, ist auch in ausgleichender Weise bei der Entwicklung der Harzkanäle von Bedeutung. Die Harzkanäle entstehen schizogen, also durch Auseinanderweichen und Teilung von Zellen, Vorgänge, die sicher von anderen Faktoren abhängig sind als die Bildung des Balsams in den Epithelzellen. Dadurch, daß das Sekret sich in großen Tröpfchen ansammelt, ist ein Vorrat von Balsam vorhanden, der bei schneller Erweiterung des schizogenen Ganges in diesen eingepreßt werden kann. Eine ungleichmäßige lokale Vergrößerung muß einen ungleichen Verbrauch der in Tröpfchen aufgespeicherten Sekretstoffe bedingen, wodurch sich wieder die Tatsache erklärt, daß tröpfchenführende und tröpfchenfreie Epithelzellen regellos durcheinanderliegen. Es ist aber zu beachten, daß auch die hydrostatische

Verschiebung des leicht flüssigen Balsams bei dem Druckausgleich mitwirkt.

Die auffallende Tatsache schließlich, daß in älteren Blattanlagen, die in lebhafter Streckung begriffen sind, nur kleine Tröpfchen angetroffen werden, hängt offenbar damit zusammen, daß das Sekret, welches im Plasma gebildet wird, so schnell in den Harzgang einwandert, daß es nicht zur Ansammlung größerer Tropfen kommen kann.

XI. Schlußbemerkung.

Tschirchs Bemühungen waren darauf gerichtet gewesen, den Nachweis zu erbringen, daß seine Theorie der Sekretbildung vermittelt einer »sekretogenen« Schicht ein allgemeines Gesetz im Pflanzenreich sei (1908, 10), das nicht nur für die Harzgänge und Öldrüsen, sondern auch für die Drüsenhaare, Kollateren, Drüsenflächen, Ölzellen usw. Geltung habe. Dieses Gesetz sollte »unsere Kenntnis von den Leistungen der Membran nach einer neuen Richtung« (1906, 1232) erweitern und zeigen, daß der Membran ohne Mitwirkung des Plasmas besondere chemisch-synthetische Fähigkeiten innewohnen.

Die mitgeteilten Beobachtungen haben gelehrt, daß gerade eins der wichtigsten Sekrete, das Harz der Koniferen, nicht auf die Weise entsteht, daß also die Theorie der Sekretbildung durch Vermittlung einer sekretogenen Schicht kein allgemein gültiges Gesetz ist. Es wurde nachgewiesen, daß in den Harzgängen der Abies-Nadeln keine resinogene Schicht vorhanden ist, daß vielmehr, besonders in den jungen Kanälen, in denen nach Tschirch die Harzbildung vornehmlich erfolgen soll, große Sekrettropfen in den Epithelzellen an einer Stelle auftreten, die keinen Zweifel darüber möglich läßt, daß von da aus diese Harzsubstanzen durch die Wand der Epithelzellen in den Hohlraum der Gänge gelangt¹. Wenn es für die Harzgänge der Abiesnadeln, und, wie nicht zu bezweifeln ist, für

¹) In Abschluß begriffene Untersuchungen von Frl. A. Frank haben gezeigt, daß die Harzgänge in Rinde, Bast und Holz unserer wichtigsten einheimischen Koniferen sich ebenso verhalten wie die Nadeln der Abiesarten und daß in deren Harzgängen die Epithelzellen sogar in besonders auffallender Weise Sekrettröpfchen anhäufen.

die Harzgänge der Koniferen überhaupt (vgl. obere Anm.¹) feststeht, daß nicht eine sekretogene Schicht, sondern das Plasma der Epithelzellen Sitz der Harzbildung ist, wird es so gut wie sicher, daß es eine, unabhängig vom Plasma sekretbildende Schleimschicht überhaupt nicht gibt. Daß Schleimschichten zusammen mit Harz in Sekretgängen vorkommen, soll damit nicht in Zweifel gezogen werden; sie finden sich wahrscheinlich überall da, wo Gummiharze in Sekretbehältern auftreten (de Bary, 1877, 152). Der Schleim ist aber höchstwahrscheinlich in diesen Fällen, wie etwa in den allgemein bekannten und weitverbreiteten Schleim führenden Schläuchen als selbständiges Sekret neben Harzbalsam nicht als Laboratorium der Harzsubstanz zu betrachten. Solche Harz und Schleim führenden Drüsen sind durch die schon eingangs erwähnten ausgezeichneten Untersuchungen Hansteins über die Kollateren der Knospenschuppen zahlreicher Dikotylen genauer bekannt geworden. Neben Knospendecken, deren Drüsenzotten nur Gummischleim oder nur Harz bilden, fand Hanstein eine ganze Anzahl solcher, bei denen ein Gemenge beider Substanzen abgesondert wird. In den letztgenannten Fällen tritt der Schleim in einer Schicht zwischen Kutikula- und Zellulosewand auf, so daß man glauben könnte, daß er durch Verschleimung einer Zelluloseschicht entstünde. Hanstein hält sich aber nach seinen Befunden nicht für berechtigt zu entscheiden, ob diese Annahme zutrifft oder ob Schleim bzw. eine schleimbildende Substanz im Zellinnern produziert und in die Membran ausgeschieden wird. Anders verhält es sich bei den Drüsenzotten mit dem Harz. Es konnten in allen Fällen kleinere oder größere Harztröpfchen in den Drüsenzellen nachgewiesen werden, am klarsten bei den Stipulardrüsen von *Viola Altaica*. Hier beobachtete und reproduzierte Hanstein die Harztröpfchen »auf der Wanderung durch die Membran nach außen« (Fig. 110 bis 112) in Abbildungen, die mit den unsrigen bei den jungen Epithelzellen vollkommen übereinstimmen. Man muß also, soweit das ohne Nachuntersuchung möglich ist, die Harzbildung bei den genannten Kollateren derjenigen der Abiesnadeln parallel stellen, trotzdem hier genau wie bei den typischen resinogenen Schichten in Schleimmassen außerhalb der

Zelle kleine und große Tröpfchen in Mengen auftreten¹. Wie bei diesen Kollateren dürften die Verhältnisse auch bei den Gummiharzgängen der Umbelliferen, Burseraceen usw. liegen, was allerdings erst dann feststeht, wenn auch dort das Sekret in den Epithelzellen gefunden wird. Es braucht wohl nicht besonders darauf hingewiesen zu werden, daß auch die Öldrüsen, bei denen es Tunmann (1900) »niemals gelang, ätherisches Öl resp. Harz in den Stiel- und Sezernierungszellen . . . nachzuweisen«, während überall eine resinogene Schicht vorhanden sein soll, sowie die Ölzellen, bei denen innerhalb der Zelle unter Beteiligung des Plasmas eine resinogene Schicht entstehen soll (Biermann, 1898) und ähnliche Fälle nach dem Ergebnis vorliegender Untersuchung der Nachprüfung bedürfen.

XI. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Es läßt sich nachweisen, daß in den Harzzellen der Koniferennadeln kein wandständiger Schleimbeleg (resinogene oder sekretogene Schicht) vorhanden ist.

2. In den Epithelzellen dieser Harzgänge sind Sekrettröpfchen enthalten, die mikrochemisch mit dem Balsam der Harzkanäle übereinstimmen, also Harztröpfchen darstellen. Bei jungen Epithelzellen sind diese Tröpfchen im Vergleich zum Querschnitt des Protoplasten sehr groß, bei erwachsenen und mehrjährigen verhältnismäßig klein und in geringerer Menge vorhanden.

3. Die Sekrettröpfchen treten, von vereinzelt pathologischen Fällen abgesehen, nur auf der an den Harzkanal grenzenden Oberfläche des Protoplasten (Sekretfeld) nicht im Innern desselben auf.

4. Sie entstehen wahrscheinlich in kleinen oberflächlichen Vakuolen, die durch Aufreißen an der Oberfläche das Sekret in den Raum zwischen Protoplasten und Membran ausstoßen. Bildung des Sekrets und Ausstoßung aus dem Protoplasten sind somit eng verknüpft.

¹) Hanstein selbst trägt Bedenken, diesen Schluß zu ziehen und glaubt mit der Möglichkeit rechnen zu müssen, daß ein noch unbekannter Wand bildender Zellulosekörper ausgeschieden werde, der außerhalb der Zellulosehaut und des Protoplasmas . . . leicht in Harz übergehen könnte, weil es ihm nicht gelang, in der Drüsenmembran selbst Harz nachzuweisen. Vgl. dazu oben S. 412.

5. Auf den zwischen Hautschicht und Membran angesammelten Sekrettröpfchen lastet der Turgordruck, der beim Durchpressen des Sekrets durch die Membran der Drüsenzellen als den Durchtritt beschleunigender Faktor zur Geltung kommt.

6. Ein allgemeines Gesetz der Sekretbildung durch Vermittelung einer sekretogenen Schicht existiert nicht. Wahrscheinlich ist in den Harzschleim führenden Behältern der Umbelliferen usw. der Schleim als selbständiges Sekret neben dem Harz bzw. ätherischen Öl anzusehen, nicht als Sekret bildende Schicht, womit die Existenz von sekretogenen Schichten überhaupt wegfiel.

Literatur.

Ausführliche Literatur bei Tschirch, 1906, S. 1095/96.

1. Behrens, J., Über einige ätherisches Öl sezernierende Hautdrüsen. Ber. d. d. bot. Ges. 1886. **4**, 400—404.
2. Berthold, Protoplasmamechanik. Berlin. 1886. S. 14.
3. Biermann, R., Über Bau und Entwicklungsgeschichte der Ölzellen und die Ölbildung in ihnen. Diss. Bern. 1898.
4. Czapek, F., Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl. Bd. III. Jena. 1921.
5. de Bary, A., Über die Wachsüberzüge der Epidermis. Bot. Zeitg. 1871. **29**, 128 ff.
6. —, Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane usw. Leipzig. 1877.
7. Ducommun, Études sur les acides cristallisés des Abietinées. Thèse Berne. 1885.
8. Euler, H., Grundlagen u. Ergebnisse der Pflanzenmikrochemie. Braunschweig. 1908. I. 1909. II u. III.
9. Franchimont, Recherches sur l'origine et la constitution chimique des résines de terpènes. Arch. néerland. d. sc. exactes et nat. 1871. **6**, 426.
10. Groom, P., On bud protection in Dicotyledons. The transact. Linn. soc. Bot. III. part. 8. 1893. 255—266.
11. Haberlandt, G., Physiologische Pflanzenanatomie. V. Aufl. 1918.
12. Hanstein, J., Über die Organe der Harz- und Schleimabsonderung in den Laubknospen. Bot. Zeitg. 1868. **26**, 697 ff.
13. Heller, A., Über die Wirkung ätherischer Öle und einiger verwandter Körper auf die Pflanzen. Flora. 1904. **93**, 1—31.
14. Küster, E., »Zelle und Zellteilung« in: Handwörterbuch d. Naturwiss. 1915. **10**, 769 ff.
15. Meyer, A., Chlorophyllkorn. 1883.
16. —, Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. I. Jena. 1920.
17. Molisch, H., Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena. 1891.
18. —, Mikrochemie der Pflanze. 2. Aufl. Jena. 1921.
19. —, Anatomie der Pflanzen. 2. Aufl. Jena. 1922.

20. Müller, W. J. C., Untersuchung über die Verteilung der Harze, ätherischen Öle, Gummi und Gummiharze und die Stellung der Sekretionsbehälter im Pflanzenreich. Pringsh. Jahrb. 1866. **5**, 385.
 21. Müller, R., Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Ölbehälter. Ber. d. d. bot. Ges. 1905. **23**, 292.
 22. Münch, E., Naturwissenschaftliche Grundlagen der Kiefernharznutzung. Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. 1919. **10**, 38.
 23. Pfeffer, W., Über Aufnahme und Ausgabe ungelöster Körper. Abh. d. math.-phys. Kl. d. kgl. sächs. Ges. d. Wiss. 1890. **16**, 145—184.
 24. —, Zur Kenntnis der Plasmahaut und der Vakuolen nebst Bemerkungen über den Aggregatzustand des Protoplasmas und über osmotische Vorgänge. Ebenda. 185—399.
 25. —, Studien zur Energetik der Pflanze. Ebenda. 1893. **31**, 149—278.
 26. —, Pflanzenphysiologie. I. 2. Aufl. 1897.
 27. Reinitzer, F., Die Harze als pflanzliche Abfallstoffe. Mitt. naturw. Ver. f. Steiermark. 1913. **50**.
 28. Rothert, »Gewebe« in: Handbuch der Naturwiss. 1913. **4**, 1214ff.
 29. Schmidt, R. H., Über Aufnahme und Verarbeitung von fetten Ölen durch Pflanzen. Flora. 1891. **74**, 300—370.
 30. Schwabach, E., Zur Kenntnis der Harzabscheidungen in Coniferennadeln. Ber. d. d. bot. Ges. 1899. **17**, 291—303.
 31. —, Bemerkungen zu den Angaben von A. Tschirch über die Harzabscheidungen in Coniferennadeln. Ebenda. 1900. **18**, 417—421.
 32. Tschirch, A., Über die Bildung von Harzen und ätherischen Ölen im Pflanzenkörper. Jahrb. f. wiss. Bot. 1893. **25**, 370—379.
 33. —, Die Harze und die Harzbehälter. 1. Aufl. 1900.
 34. —, Die Harze und die Harzbehälter. 2. Aufl. Leipzig. 1906.
 35. —, Die Einwände der Frau Schwabach gegen meine Theorie der Harzbildung. Ber. d. d. bot. Ges. 1901. **19**, 25.
 36. —, Chemie u. Biologie der pflanzlichen Sekrete. Vortr. Leipzig. 1908.
 37. —, Die Lokalisation der chemischen Arbeit in der Pflanze. Mitt. d. bernischen Naturf. Ges. 1914.
 38. —, Die Membran als Sitz chemischer Arbeit. Verhandl. d. schweiz. naturf. Ges. 1914. 178—188.
 39. —, Die biochemische Arbeit der Zelle d. höheren Pflanzen und ihr Rhythmus. Bern. 1921.
 40. Tunmann, O., Über die Sekretionsdrüsen. Diss. Bern. 1900.
 41. —, Pflanzenmikrochemie. Berlin. 1913.
 42. Wakker, J. H., Studien über die Inhaltskörper der Pflanzenzelle. Pringsh. Jahrb. 1888. **19**, 423—492.
 43. Will, A., Beiträge zur Kenntnis von Kern und Wundholz. Diss. Bern. 1899.
 44. Zollikofer, Cl., Über die Endigung der Harzgänge in den Blättern einiger Pinusarten. Beitr. z. allg. Bot. 1917. **1**. Heft 3.
-

Tafelerklärung.

Pr = Profilansicht, Fl = Flächenansicht der Epithelzellen der Harzkanäle. Alle Abbildungen stammen von *Abies Nordmanniana*. Mit Ausnahme der Fig. 12 u. 13 sind alle Abbildungen mit dem Zeichenapparat gezeichnet.

Tafel III.

Abb. 1. Längsschnitt durch einen jungen Harzkanal. Zeiß, Comp. Oc. 6. Apochr., Hom. Imm. 2 mm.

Abb. 2. Epithelzelle im Profil aus einem jungen Harzkanal. Knospe ca. 5 mm lang, Nadel 2,5 mm lang. Fixiert Mai 1920. Zeiß, Comp. Oc. 6. Imm.

Abb. 3. Desgl. Flächenansicht einer Epithelzelle desselben Präparates.

Abb. 4. Längsschnitt durch einen jungen Harzkanal. Knospe 8 mm, Nadel 2—3 mm lang. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Apochr. Hom. Imm. 2 mm.

Abb. 5. Längsschnitt. Epithelzellen im Profil. Knospe 12 mm, Nadel 5 mm lang. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Imm.

Abb. 6. Querschnitt durch einen jungen Harzkanal. Knospe in Entfaltung, 1,7 cm, Nadel 6 mm lang. Zeiß, Oc. 3. Obj. F.

Abb. 7. Längsschnitt durch einen jungen Harzkanal. »Harzfaden« mit glasartiger Bruchstelle durchbrochen, von einer farblosen »Manschette« (vgl. S. 404) umhüllt. Knospe 8 mm. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Imm.

Abb. 8. Längsschnitt durch eine 1,3 cm lange, in Streckung begriffene, noch weiche Nadel. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Imm.

Abb. 9. Desgl. Flächenbild aus dem Epithel.

Abb. 10. Epithelzellen, Flächenansicht. Zweijährige Nadel. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Imm.

Abb. 11. Desgl. Profilansicht.

Abb. 12. Der Plasmaschlauch von Abb. 11 nach Behandlung mit Chloralhydrat.

Tafel IV.

Abb. 13. Präparat wie Abb. 4 während Auflösung der Sekrettröpfchen mit Alkohol-Äther. Eine der »Manschette« entsprechende Kuppe hebt sich von den in Lösung begriffenen Harztröpfchen ab.

Abb. 14. Querschnitt durch einen jungen Harzkanal. Knospe 10 mm, Nadel 2 mm lang. Fixiert Mai 1920 in Osmiumsäure-Kupferacetat. Zeiß, Comp. Oc. 6. Imm.

Abb. 15. Anderer Querschnitt aus derselben Nadel.

Abb. 16. Epithelzellen aus einem jungen Harzkanal einer 8 mm langen Knospe. Nadel 2 mm lang. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 6. Imm.

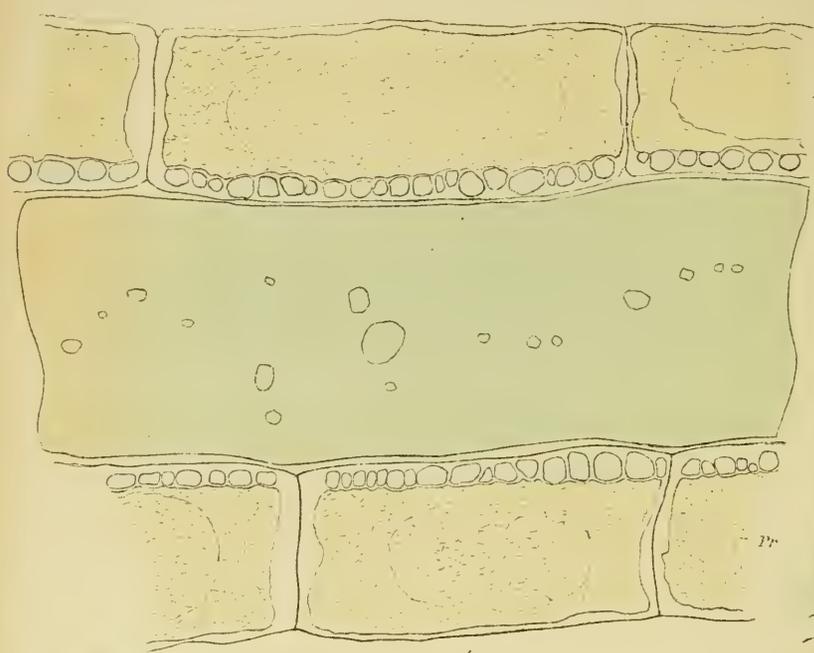
Abb. 17. Längsschnitt aus einer 6 mm langen Nadel, Knospe 15 mm lang. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 6. Imm.

Abb. 18. Epithelzelle eines jungen Harzkanals im Profil. Knospe 8 mm, Nadel 4 mm lang. Fixiert Mai 1920. Winkel, Comp. Oc. 4. Imm.

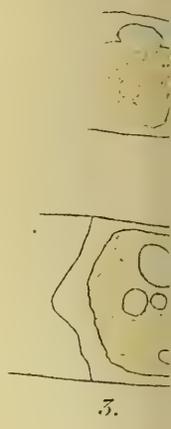
Abb. 19. Querschnitt durch eine junge Epithelzelle. Knospe 12 mm, Nadel 5 mm lang. Fixiert Juni 1920. Winkel, Comp. Oc. 6. Imm.

Abb. 20. Querschnitt durch junge Epithelzellen, wie oben. Fixiert Juni 1920. Winkel, Comp. Oc. 6. Imm.

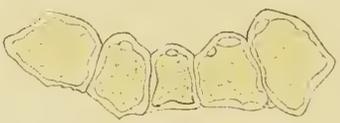




1.



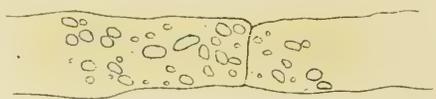
3.



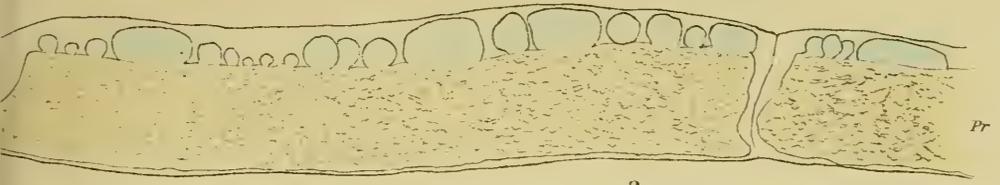
6.



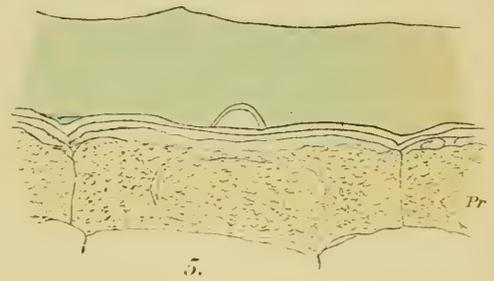
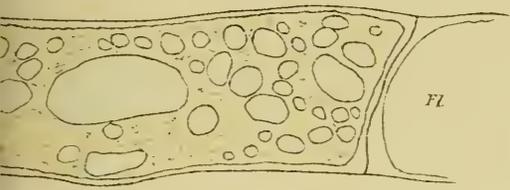
7.



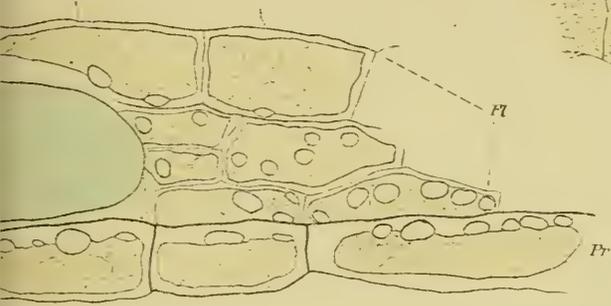
9.



2.



5.



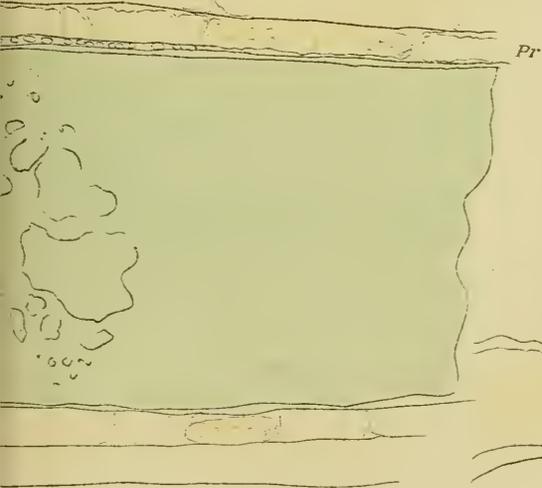
4.



5a.



10.



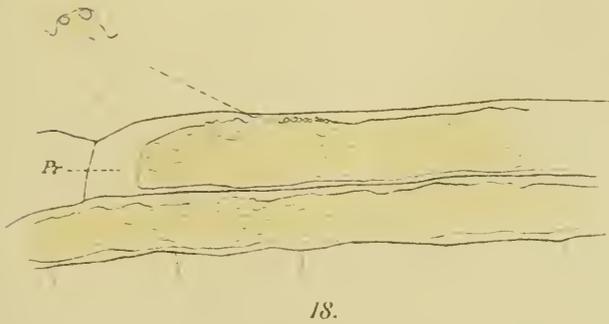
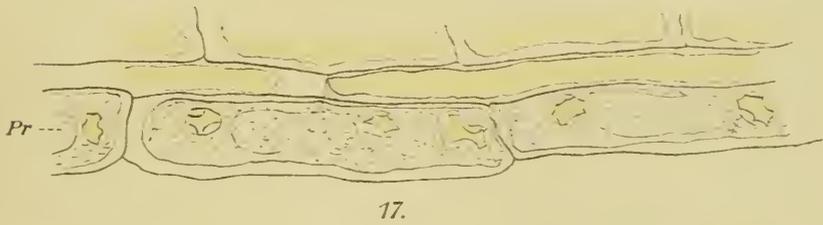
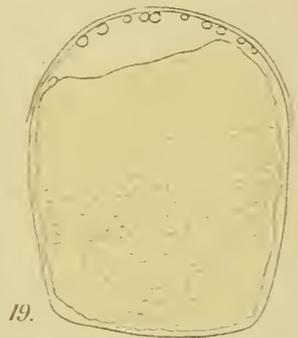
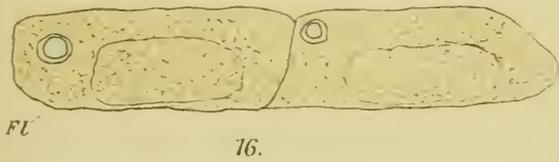
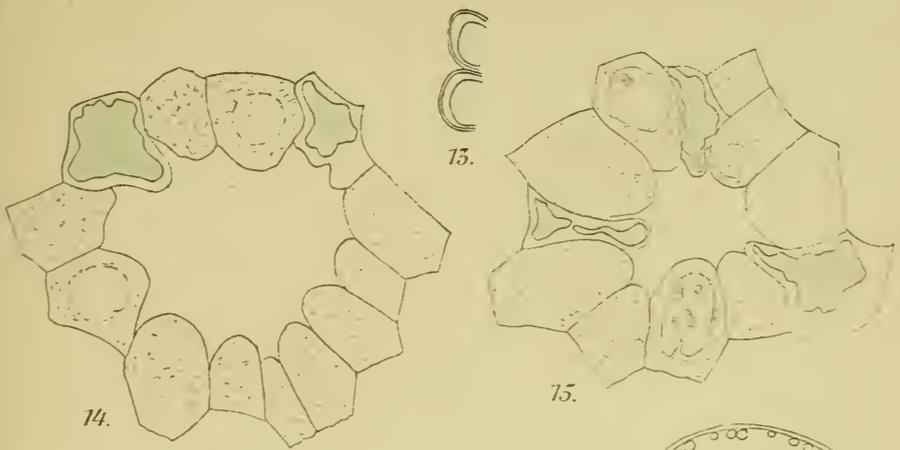
8.



12.



11.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1922

Band/Volume: [14](#)

Autor(en)/Author(s): Hannig E.

Artikel/Article: [Untersuchungen über die Harzbildung in Koniferennadeln. 385-421](#)