

PROTOPLASMAZUSTAND NÄHRSAZLMANGELKRANKER PFLANZEN

VON ZITA KALCHHOFER

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 10 Textfiguren

Eingegangen am 22. Februar 1936

Disposition

Einleitung	249
I. Versuche mit <i>Helodea</i>	251
1. Material und Methode	251
2. Makroskopisch sichtbare Krankheitssymptome	252
3. Mikroskopisch sichtbare Krankheitssymptome	253
a) Chloroplastengröße	253
b) Stärkegehalt	254
c) Osmotischer Wert	254
d) Verhalten in Neutralrotlösung	255
4. Plasmolyseverhalten	257
a) In 0,5 Mol KCl	257
b) In 1,0 Mol KCl	258
c) In 0,5 Mol Harnstoff	259
d) In 1,0 Mol Harnstoff	260
e) In 1,5 Mol Harnstoff	261
f) In 0,5 Mol CaCl ₂	262
g) In 1,0 Mol CaCl ₂	263
5. Resistenz	264
a) Gegen Alkohol	264
b) Gegen Säure	266
c) Gegen Hitze	268
II. Versuche mit <i>Vicia faba</i>	270
III. Versuche mit <i>Tradescantia</i>	274
IV. Diskussion	276
V. Zusammenfassung	278
VI. Literatur	279

Einleitung

Das äußere Krankheitsbild von Pflanzen, die infolge Fehlens unentbehrlicher Nährsalze pathologische Erscheinungen zeigen, ist besonders für Kulturpflanzen vielfach beschrieben und relativ gut bekannt.

Dagegen ist unsere Kenntnis über die protoplasmatischen Grundlagen der Mangelkrankheiten höchst unbefriedigend. Daß die Mangelkrankheiten in einer pathologischen Veränderung des Protoplasmazustandes begründet sind, das kann wohl ohne weiteres angenommen werden. Es fragt sich aber, ob der heutige Stand

der Protoplasmaforschung es schon gestattet, solche Veränderungen im Protoplasmazustand zu erkennen und aufzudecken. Die Methoden der Charakterisierung lebender Protoplasten, die von Weber (1929) zum Ausbau der „Protoplasmatischen Pflanzenanatomie“ verwendet, von Höfler (1932) in den Dienst der „Vergleichenden Protoplasmatik“ gestellt wurden, werden sich auch dazu eignen, kranke von gesunden Protoplasten zu unterscheiden. Die Methodik ist allerdings bisher erst wenig ausgebaut, doch dürfte der Versuch immerhin gewagt werden, die Untersuchungsweise der vergleichenden Protoplasmatik auch zur Kennzeichnung pathologischer Zellzustände heranzuziehen.

Einen derartigen Versuch stellt die vorliegende Arbeit dar; bei der Neuheit der Fragestellung konnte es sich dabei kaum um mehr als um eine Orientierung handeln. Zunächst wurde eine Beschränkung des Themas dahin getroffen, daß die „Pathologische Protoplasmatik“, um die sich die Untersuchung bemüht, sich nur auf mangelkranke Pflanzen bezieht. Pflanzen, die an anderen Erkrankungen leiden, wurden nicht in Betracht gezogen.

Es ist denkbar, daß sich im Zustand des Protoplasmas von Pflanzen, die an Nährsalzmangel leiden, schon in einem Zeitpunkt Veränderungen einstellen, wo sich makroskopisch Krankheitssymptome noch nicht erkennen lassen. Für diese Vermutung spricht, daß bei entwicklungsphysiologischen Vorgängen, noch bevor sich diese morphologisch zu erkennen geben, Protoplasmazustandsänderungen nachweisbar sind. So ändert sich bei Spirogyren, die in Kopulationsbereitschaft treten, die Plasmolyseform schon in einem Zeitpunkt, in dem den Fäden diese physiologische Veränderung noch nicht „angesehen“ werden kann. Wenn dies auch bei pathologischen Veränderungen so wäre und wenn sich Zustandsänderungen des Protoplasmas als mikroskopische Symptome schon im Frühstadium der Krankheit ermitteln ließen, so wäre damit sicherlich viel gewonnen. Zunächst theoretisch, denn diese protoplasmatischen Symptome könnten für das Wesen und für das Verständnis der Krankheit wertvoll sein. Dann aber vielleicht auch praktisch, denn es würde sich dabei ja um nichts weniger als um eine Frühdiagnose handeln und die Wichtigkeit von Frühdiagnosen für die Therapie ist ja ohne weiteres ersichtlich.

Die Bedeutung der hiermit kurz skizzierten Probleme mag es rechtfertigen, daß Beobachtungen mitgeteilt werden, die an sich eigentlich noch wenig befriedigen, als der Anfang eines kaum noch begangenen Weges können sie aber doch wohl Interesse finden.

Von den Methoden, die zur Charakterisierung des Zustandes lebender Protoplasten und vergleichend auch zur Aufdeckung von Zustandsänderungen in letzter Zeit herangezogen wurden, seien zunächst nur folgende namhaft gemacht. Die Untersuchung der Permeabilität, Viskosität, Plasmolyseform, Plasmolyseorte, Resistenz gegen physikalische und chemische Eingriffe; diese und ähnliche Methoden, zu denen ja auch noch vor allem die Vitalfärbung kommt, sind bisher in erster Linie zur Unterscheidung gesunder Protoplasten verschiedener Pflanzen, Gewebe und Zellen herangezogen worden; es finden sich aber immerhin schon vereinzelt Angaben, daß sich mit solchen Methoden krankes Protoplasma von gesundem der gleichen Zellart unterscheiden läßt. So sind die Zellen der

Wurzeln und Keimchen der Orchideen, die mit lebenden Hyphen des Mykorrhizapilzes erfüllt sind, gegen Plasmolyse viel empfindlicher als mykorrhizafreie Zellen. Das Plasma dieser Zellen haftet mit besonderer Zähigkeit an der Zellmembran und es gelingt nur nach geeigneter Vorbehandlung, wie Wässern und Ätherisieren, sie zu plasmolysieren (Germ 1934). Kaho (1935) hat versucht, die Zellen abbaukranker Kartoffeln protoplasmatisch zu charakterisieren, und zwar durch Bestimmung der Permeabilität sowie des Oxydationsreduktionsvermögens. Fuchs (1935) und Santaella (1935) kennzeichnen den physiologischen und pathologischen Zustand von Kulturpflanzen durch Bestimmungen sog. „Zustandsindikatoren“, das sind: Trockensubstanzgehalt, osmotischer Wert, Zuckergehalt, N-Gehalt, pH, Titrationsazidität. Wie schon diese wenigen Angaben erkennen lassen, besteht demnach zweifelsohne das Bestreben, die Pflanzenkrankheiten protoplasmatisch zu kennzeichnen.

I. Versuche mit *Helodea*

1. Material und Methode

Hauptversuchspflanze war *Helodea canadensis*. Als Wasserpflanze befindet sie sich in Nährlösung kultiviert in Verhältnissen, die den natürlichen in wesentlicher Hinsicht gleichen. Außerdem ist *Helodea* wegen ihres einfachen anatomischen Baues seit langem ein beliebtes Objekt zellphysiologischer Studien. Auch ist die protoplasmatische Anatomie von *Helodea* relativ gut bekannt.

Auch für Untersuchungen über „physiologische Ungleichheit morphologisch gleichwertiger Zellen“, einer Hauptforderung der protoplasmatischen Anatomie im Sinne Webers, ist das *Helodea*-Blatt ein besonders geeignetes Objekt.

Unterschiede im Verhalten der Teile des *Helodea*-Blattes sind schon lange bekannt. So fand Seifriz (1923) Unterschiede in der Alkoholresistenz, Weber (1925) in der Empfindlichkeit gegenüber verdünnter Kalisalpetrolösung und von oligodynamisch wirksamen Kupferwasser, Gicklhorn (1927) Unterschiede in der Manganspeicherung. Zirkle (1926) fand, daß die Zellen der Basis und der Rippennähe die Funktion der Stärkespeicherung erfüllen, während die übrigen Zellen hauptsächlich der Assimilation dienen. Pekarek und Fürth (1931) zeigten, daß ganze Zellgruppen eine bestimmte Richtung in der Rotationsbewegung des Protoplasmas aufweisen, Collins (1931) fand Unterschiede in der Giftwirkung, Weber (1932) in der Säureresistenz, Belahradek und Melichar (1925) in der Hitzeresistenz. Moder (1932) endlich konnte nachweisen, daß diese Unterschiede im Verhalten des *Helodea*-Blattes nicht willkürlich, sondern ganz gesetzmäßig sind. Sie fand protoplasmatische Unterschiede „zwischen Ober- und Unterseite und zwischen den verschiedenen Teilen der Oberseite, und zwar: zwischen dem Feld einerseits der Rippe und Basis andererseits. Der Blattrand verhält sich in mancher Hinsicht wie Basis und Rippe. Besonderes Verhalten zeigen die Blattzähne und amphinekrotische Zellen“. Sie untersuchte Permeabilität, osmotischen Wert, Verhalten in Neutralrot, Tellurwirkung, Plasmolyse bei Narkose und Kälte, Resistenz gegen destilliertes Wasser und Stärkegehalt. Ihre Angaben wurden von Meindl (1934) bestätigt und erweitert. In allerletzter Zeit erschienen Arbeiten von Gahlen (1935) und Esterak (1935). Esterak konnte feststellen, daß alle Vorgänge am *Helodea*-Blatt nach zwei Grundgradienten vor sich gehen, die durch physikalische und chemische Bedingungen abgeändert werden können.

Das Material für unsere Versuche stammt zum Teil aus dem Andritz-Bach, zum Teil aus einem kleinen Teich in der Nähe von Maria Trost bei Graz. Es wurde in Aquarien übertragen und in diesen an einem NW-Fenster des Instituts aufgestellt.

Für die Nährlösungen wurden Standgläser von 100—200 ccm Fassungsraum verwendet. Sie wurden zuerst gründlich mit Salzsäure und Sublimat gereinigt, und dann mit Paraffin (Paraffinum solidum molle, 40^o—50^o) ausgegossen, um das Herausschmelzen von Stoffen aus dem Glas zu verhindern. Die Nährlösungen wurden nach Merkenschlager (1925) bereitet. Es kamen auf 1000 ccm destilliertes Wasser:

Vollständige Nährlösung:	Ca-freie Lösung:	N-freie Lösung:
1,00 KNO ₃	1,00 KNO ₃	0,50 MgSO ₄ · 7 H ₂ O
0,25 Ca(PO ₄) ₂	0,25 K ₂ HPO ₄	0,50 K ₂ SO ₄
0,25 Fe ₃ (PO ₄) ₂	0,25 Fe ₃ (PO ₄) ₂	0,50 CaSO ₄ · 2 H ₂ O
0,50 MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,70 MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,25 Ca ₃ (PO ₄) ₂
0,50 CaSO ₄ · 2 H ₂ O	0,40 K ₂ SO ₄	0,25 Fe ₃ (PO ₄) ₂
pH = 6,2	pH = 7,0	pH = 6,2
P-freie Lösung:		K-freie Lösung:
1,00 KNO ₃	1,00 NaNO ₃	
0,25 CaCl ₂ · 6 H ₂ O	0,25 Ca ₃ (PO ₄) ₂	
0,50 MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,25 Fe ₃ (PO ₄) ₂	
0,50 CaSO ₄ · 2 H ₂ O	0,50 MgSO ₄ · 7 H ₂ O	
0,04 FeSO ₄ · 7 H ₂ O	0,50 CaSO ₄ · 2 H ₂ O	
pH = 5,8	pH = 6,4	

Die Salze wurden von Merk, Darmstadt, bezogen. Das Wasser für die Nährlösungen wie für alle übrigen Lösungen wurde in dem von Bersa (1932) konstruierten Destillierapparat destilliert; es ist vollkommen frei von Metallionen. Um die Kohlensäure zu entfernen wurde es vor dem Zubereiten der Lösungen bis zum Sieden erhitzt.

Hatten die Pflanzen sich den geänderten Vegetationsbedingungen der Kultur angepaßt, wurden möglichst gleichwertige Sprosse in die Nährlösung übertragen, nachdem sie vorher gründlich in destilliertem Wasser geschwemmt worden waren.

Das pH der verschiedenen Nährlösungen zeigt, wie ersichtlich, Unterschiede. Besonders in der P-freien Nährlösung ist es kleiner als in den übrigen. Bei Messungen mit dem Universalindikator nach Merk wurde jedoch nach kurzer Kulturdauer in unseren Versuchen in allen Lösungen ein pH von annähernd 7 gefunden. Es hat also eine Regulation der Wasserstoffionenkonzentration stattgefunden. Dadurch kommt der pH-Faktor als Fehlerquelle kaum in Betracht.

An Stelle von „Pflanzen aus Ca-freier, N-freier usw. Nährlösung“ wird der Kürze halber einfach von „Ca-freien, N-freien usw. Pflanzen“ gesprochen. Unter „Plasmolysegradient“ wird der Gradient, nach dem die Plasmolyse konvex wird, verstanden.

2. Makroskopisch sichtbare Krankheitssymptome

Die Sprosse, die in die Lösung kamen, wurden recht kurz genommen, so daß erst die Blätter dreier Wirtel voll entwickelt waren. Die übrigen umhüllten noch die Vegetationspitze. Anfangs entwickelten sich die Sprosse sämtlicher Pflanzen gleich. Weder in der Anzahl der Wirtel, noch in der Länge der Sprosse konnten Unterschiede festgestellt werden. Bald aber blieben Pflanzen aus N-, P- und Ca-freien Lösungen bedeutend hinter normalen Pflanzen zurück, K-freie waren bei ungefähr gleicher Wirtelzahl viel länger geworden. Achselknospen wurden nur bei normalen Pflanzen, weniger oft bei K-freien, und ganz selten bei N-freien gebildet. An P- und Ca-freien wurden sie niemals bemerkt. Normale Pflanzen hatten eine saftige grüne Farbe und unterschieden sich nicht von Pflanzen, die in Leitungswasser kultiviert wurden.

Ca-freie Pflanzen

In Ca-freier Lösung konnten sich Pflanzen nur kurze Zeit am Leben erhalten. Schon nach 7—10 Tagen waren sie in ihrer Entwicklung hinter den Pflanzen in vollständiger Nährlösung zurückgeblieben. Die Anzahl der Wirtel war zwar dieselbe und nur die Gesamtlänge des Sprosses erreichte nicht die normal entwickelter Pflanzen. Es waren also die Internodien verkürzt. Bald aber wurden auch die Blätter nicht mehr entwickelt. An Stämmchen und Blättern entstanden braune Flecken, Stämmchen und Blätter verloren den Turgor, wurden schlaff und beinahe farblos.

N-freie Pflanzen

Sie zeigten in ihrem Verhalten viel Ähnlichkeit mit Ca-freien. Die Sprosse beider Pflanzen entwickelten sich anfangs ziemlich gleich. Sproßlänge und die Anzahl der entwickelten Wirtel war bei beiden fast dieselbe. Doch behielten N-freie Pflanzen viel längere Zeit ihr normales Aussehen und ihre Stämmchen bewahrten den Turgor. In der dritten bis vierten Woche nach Einlegen in die Nährlösung verloren aber auch die Blätter N-freier Pflanzen ihre grüne Farbe, wurden schmutziggrau, besaßen keinen Turgor, so daß sie schlaff herabbingen.

P-freie Pflanzen

Ihre Länge entspricht ungefähr der Ca- und N-freier Pflanzen. Die Zahl der Wirtel ist etwas höher als die der letzteren. Die Pflanzen nehmen bald eine bräunliche Farbe an, die wohl vom Fe herrührt, das in dieser Lösung in Form von FeSO_4 geboten wird. Die Blätter P-freier Pflanzen sind etwas derb und spröde.

K-freie Pflanzen

In den ersten drei Wochen zeigten sie keinerlei Abweichung von Pflanzen aus vollständiger Lösung. Später jedoch setzte bei ihnen ein bedeutendes Streckenwachstum ein. Die Pflanzen erhielten dadurch ein zarteres Aussehen; die Stämmchen waren viel dünner, die Internodien gestreckt (vgl. Hunger-Etiolement, Küster).

3. Mikroskopisch sichtbare Krankheitssymptome

a) Chloroplastengröße

Die Chloroplasten normal ernährter Pflanzen sind während der ganzen Versuchsdauer annähernd gleich groß. Ihr Durchmesser beträgt ungefähr 7—9 μ . Sie sind stets saftig grün und in Epistrophe, d. h. an der dem Außenmedium zugewandten Seite gelagert.

In Ca-freien Pflanzen erreichen die Chloroplasten nie die Größe der normal ernährter Pflanzen. In den ersten beiden Wochen nach Einlegung in die Nährlösung erreichten sie einen Maximaldurchmesser von 4—5 μ . Schon in dieser Zeit ist ihre grüne Farbe verblaßt. Sie sind ziemlich gleichmäßig an allen Wänden verteilt. In der dritten Woche werden die Chloroplasten winzig klein, ihr Durchmesser beträgt nur mehr 1—2 μ , ihre Farbe ist gelbgoldbraun. Stets ist in den Zellen lebhaftes Plasmaströmung zu beobachten, durch die die Chloroplasten mitgerissen werden.

Die Chloroplasten N-freier Pflanzen haben in den ersten Tagen die Größe von Chloroplasten normal ernährter Pflanzen. Doch schon in der zweiten Woche werden sie etwas kleiner, ihr Durchmesser beträgt nur mehr 5 μ . Ihr Chlorophyll ist verblaßt, ihre Lage peristroph. In der dritten bis vierten Woche schließlich werden sie winzig klein wie die Chloroplasten von Ca-freien Pflanzen (1—2 μ). Wie diese haben sie nun eine gelbgoldbraune Farbe, wie bei Ca-freien Pflanzen ist auch in den Zellen N-freier stets lebhaftes Protoplasmaströmung.

In P-freier nährten Pflanzen sind die Chloroplasten in den ersten Tagen annähernd gleich groß wie die normal ernährten Pflanzen. Ihr Durchmesser beträgt im Durchschnitt 9—10 μ . Sie sind saftig grün und stets an der dem Außenmedium zugewandten Seite gelegen. Erst in der vierten Woche werden sie etwas kleiner, bekommen eine bräunliche Farbe und sind an den Seitenwänden ziemlich gleichmäßig verteilt.

An K-freien Pflanzen sind die Chloroplasten immer recht groß. In den ersten 2—3 Wochen sind sie sogar etwas größer als die normal ernährten. Ihr Durchmesser beträgt 9—10 μ , ja manchmal sogar 11 μ , später allerdings nur mehr 8—9 μ . Sie sind stets saftig grün und epistroph gelagert.

b) Stärkegehalt

Stärke ist mit Jodchloralhydrat selbst in ganz geringen Spuren sichtbar zu machen.

Am *Helodea*-Blatt ist die Stärke nie vollkommen gleichmäßig verteilt; stets nimmt ihre Menge von der Basis zur Spitze, von der Rippe zum Rand hin ab. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Moder (1931) und Meindl (1934) war in unseren Versuchen die Rippe stets stärkefrei.

Blätter aus vollständiger Nährlösung waren stets reich an Stärke, besonders in den frühen Nachmittagsstunden. Gegen Abend nahm die Stärkemenge etwas ab. Der Stärkegehalt älterer Pflanzen war etwas geringer als der jüngerer.

Die Blätter Ca-freier Pflanzen enthielten in den ersten Tagen, die sie in der Nährlösung waren, ziemlich gleiche Stärkemengen wie die normal ernährten Pflanzen. Aber schon in der zweiten Woche ging der Stärkegehalt bedeutend zurück, in der dritten und vierten Woche waren nur mehr einzelne Zellen, die ganz regellos über das Blatt verstreut waren, mit Stärke vollgeprofft, das übrige Blattfeld jedoch ganz stärkefrei. Oft war besonders in toten, schon braunen Zellen, reichlich Stärke. Vormittags und nachmittags war der Stärkegehalt kaum verschieden.

Auch bei N-freien Pflanzen war der Stärkegehalt der ersten 10 Tage gleich dem normaler Blätter. Doch waren schon in der 2.—3. Woche nur mehr Spuren nachzuweisen, später waren die Blätter überhaupt ganz frei von Stärke.

Ähnlich den N-freien Pflanzen verhielten sich auch die P-freien. Der anfangs normale Stärkegehalt ging in der 3.—4. Woche bis auf Spuren zurück, an Pflanzen, die noch länger in der Nährlösung waren, war überhaupt keine Stärke.

K-freie Pflanzen hatten in der ersten Zeit gleichviel Stärke als die normalen. In der 2.—3. Woche ging der Stärkegehalt etwas zurück. Doch enthielten die Blätter noch immer ziemliche Stärkemengen.

Wir sehen also in allen Mangelpflanzen mit Ausnahme der K-freien einen starken Rückgang in der Stärkespeicherung. Nur in Blättern Ca-freier Pflanzen finden wir in einzelnen Zellen reichliche Stärkemengen. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu den Angaben Schimpers (1889), der bei Ca-Mangel an *Tradescantia selloi* eine Stärkeschoppung bemerken konnte. Ebenso stellte Davis (1931) an K-freien Pflanzen eine Stärkeschoppung fest.

c) Osmotischer Wert

Auch im osmotischem Wert bestehen am *Helodea*-Blatt Unterschiede. Schon Seifriz (1923) berichtet darüber. Er gibt als Extremwerte 0,2—0,5 Mol KNO_3 an; doch seien solch starke Differenzen selten. Moder (1932) zeigte, daß für das *Helodea*-Blatt auch ein osmotischer Gradient vorhanden ist. Die Mittelrippen- und die Basiszellen haben den niedersten, die Zellen an der Blattspitze dagegen den höchsten osmotischen Wert. Meist sind die Grenzen der Zonen mit verschiedenem Og verwischt und kaum festzustellen, doch konnte Moder (1932) am einzelnen Blatt Unterschiede von 0,2—0,5 Mol Rohrzucker finden.

Außer diesen Schwankungen an ein und demselben Blatt, wechselt die Höhe des Og auch mit der Jahreszeit. Nach Walter (1931) beträgt das Maximum im Winter 12,7 Atm., im Sommer 10,8 Atm., das Minimum des Og für das *Helodea*-Blatt 7,5 Atm. Gahlen (1934) fand das Minimum im September bei 7,8 Atm., im Mai bis Juni 9,3—12,2 Atm., im September bis Oktober bei 9,1—10,7 Atm. Nach Esterak (1935) schwankt die Höhe des osmotischen Wertes im Winter zwischen 5—10 Atm., im Sommer zwischen 6—7 Atm. Der Og fällt also im Frühling und steigt im Herbst. Diese Schwankungen sind nicht allein durch Licht- und Temperaturänderungen, sondern wohl auch durch physiologische Gegebenheiten bedingt (Esterak). Nach Esterak (1935) steht die Höhe des Og in bestimmter Abhängigkeit vom Alter der Pflanze. Bei jüngeren *Helodea*-Blättern schwankt er zwischen 4,2—7,5, bei älteren zwischen 5,8—9,9 Atm.

Um den osmotischen Wert zu messen, bedienten wir uns der Methode der Grenzplasmolyse. Als Plasmolytikum diente Rohrzucker. Der Unterschied zwischen den einzelnen Lösungen betrug 0,05 Mol. Extreme Unterschiede wie die von Moder (1932) beobachteten, konnten nie bemerkt werden; die Differenzen waren meist sogar ganz verwischt. Der osmotische Wert betrug an

	Spitze:	Basis:
normalen Pflanzen . . .	0,3 —0,4 Mol	0,25—0,35 Mol
Ca-freien Pflanzen . . .	0,35—0,5 Mol	0,3 —0,45 Mol
N-freien Pflanzen . . .	0,3 —0,45 Mol	0,25—0,45 Mol
P-freien Pflanzen . . .	0,3 —0,45 Mol	0,25—0,4 Mol
K-freien Pflanzen . . .	0,3 —0,4 Mol	0,3 —0,35 Mol.

Wir sehen also, daß bei Nährsalzmangel im *Helodea*-Blatt keine über die normalen Schwankungen hinausgehenden Veränderungen des osmotischen Wertes eintreten. Nur an Blättern Ca-freier Pflanzen sind die Unterschiede im Og etwas ausgeprägter als an den übrigen Mangelpflanzen.

d) Verhalten in Neutralrotlösung

Es ist leicht verständlich, daß gerade die Vitalfärbung in der Protoplasmatik eine bedeutende Rolle spielt. Gelingt es doch mit Hilfe dieser Methode leicht, protoplasmatische Unterschiede an Zellen aufzufinden, die sonst vollkommen gleich aussehend erscheinen. Farbstoffaufnahme, -verteilung, -speicherung und ebenso Veränderungen, welchen die Farbstoffe erleiden, stehen in irgendeiner Weise mit den spezifischen Leistungen der gefärbten Organe und Gewebe und ebenso mit deren charakteristischen chemischen und physikalischen Eigenschaften in Beziehung.

Neben der Fähigkeit, Zellen und Gewebe in lebendem Zustand zu färben, ist die Elektrizität der Vitalfarbstoffe von allergrößter Wichtigkeit. Es können also mit einer Farbe nur bestimmte Teile der Zelle gefärbt werden; Zellsaft, Protoplasma oder Membran. In allerletzter Zeit allerdings konnte Strugger (1935) nachweisen, daß bei verschiedener Reaktion einer Farblösung auch verschiedene Teile der Zelle gefärbt werden können. An Wurzelhaaren wurden bei einem pH unter 6,4 nur die Membran, bei einem pH von 6,4 nur bestimmte Membranteile, schließlich bei einem pH über 6,4 die Vakuole gefärbt.

Der Farbstoff kann entweder diffus verteilt sein, oder aber in Form von Tröpfchen oder Körnchen ausfallen, die oft Brownsche Molekularbewegung zeigen. Oft verschmelzen Tröpfchen zu größeren Kugeln, Körnchen zu Aggregaten, die den Eindruck mikrokristalliner Fällungen machen. Außerdem gibt es eine rein kristalline Farbstoffspeicherung, wie es Pfeffer (1888), Gieklhorn (1929) beobachten konnten.

Über das Verhalten des *Helodea*-Blattes in Neutralrot sind wir durch die Arbeiten von Endler (1912), Segel (1918) und Lepeschkin (1930) unterrichtet. Sie fanden Mittelrippen- und Basiszellen besonders rasch und intensiv gefärbt. Dagegen berichten Gieklhorn (1927),

Moder (1932) und Meindl (1934), daß diese Teile am wenigsten gefärbt waren. Weber (1929) konnte am *Helodea*-Blatt mit Neutralrot, das in Leitungswasser gelöst war, Vakuolenkontraktion erzielen; bei Behandlung mit Neutralrot, das in destilliertem Wasser gelöst war, blieb sie jedoch aus.

Normale Pflanzen

Beim Verhalten in Neutralrot konnten zwei Fälle beobachtet werden. Einige Male war das Blattfeld kaum gefärbt. Nur Rand und Zähne waren dunkelrotbraun. Am Rand war ein dunkler, körniger Niederschlag, der nach der Rippe hin zu Haufen geballt war. Andere Male war das Blatt kräftig gefärbt, und zwar blutrotviolett. Auch die Rippe war nicht wie früher farblos, sondern hatte einen leichten Stich ins Rote. Zu ihren Seiten war je eine Zellreihe dunkelblauviolett. Die gleiche Farbe zeigte die Randzone, nur war hier noch ein feinkörniger Niederschlag zu bemerken. Im Feld selbst wechselten in den unteren Dritteln dunkle, rostbraunrote Zellen mit grünen ungefärbten. Das obere Drittel war kaum gefärbt. Über das ganze Blatt war ein dunkler Niederschlag; er war an der Basis feinkörnig, an der Spitze in Haufen.

Ca-freie Pflanzen

Bei Ca-freien Pflanzen war der Rand kaum gefärbt und hatte einen körnigen Niederschlag. Das untere Blattfeld war bunt gemustert. Rote, gelbe, rosarote Zellen wechselten mit grünen. Eine Insel unter der Spitze war ganz rosarot. Diese Insel blieb am längsten lebend. Wenn das ganze übrige Blatt bereits tot war, war an diesem Flecken noch lange lebhaftes Protoplasmaströmung zu bemerken.

Wurden die Blätter später in Neutralrot gegeben, hatten sie folgendes Aussehen: das Feld war in den unteren Dritteln längs der Rippe ziemlich breit rosa, gegen den Rand hin ging die Farbe in ein sehr blasses Rostbraun über. Im oberen Drittel war das Blatt dunkler; zu beiden Seiten der Mittelrippe war je eine Zellreihe violett, die übrigen Zellen waren rostrot. Der Rand war beinahe farblos und hatte einen körnigen Niederschlag. Unter dem Rand war Vakuolenkontraktion eingetreten. Der Niederschlag, der über das ganze Feld verbreitet war, bildete in der unteren Hälfte eigenartige, verästelte Figuren. Im oberen Drittel bildete er dicke Klumpen. Die Rippe war im oberen Drittel schwach rosa gefärbt.

N-freie Pflanzen

Das Blatt hatte das Aussehen eines bunten Mosaiks. Rote, rosa und grüne Zellen waren bunt durcheinandergewürfelt. Nur an der Blattbasis und unter der Spitze waren ganze Zellgruppen rosarot. Der Niederschlag war krümelig und nur in den Randzonen.

Hatten die Pflanzen länger in der Nährlösung gelegen, wurden sie durch Neutralrot etwas dunkler gefärbt. Auch die Rippe war im oberen Drittel schwach rosa. Der Niederschlag war über das ganze Blatt verteilt; er war unten verästelt, oben in Klumpen. Die Farben waren hellrostbraun, rosagelb und violett.

P-freie Pflanzen

Das Blatt P-freier Pflanzen war ziemlich gleichmäßig gefärbt. Nur unter der Spitze ein Fleck hellrosa. Der Niederschlag war unter dem Rand körnig, nach der Mitte hin klumpig.

Die Rippe blieb auch späterhin ungefärbt. Die Zellreihe neben ihr war unten violett, oben rosa. Im Blattfeld selbst wechselten rosa, grüne, bräunlichgelbe und violette Zellen. Der Niederschlag war in den äußeren Zellreihen feinkörnig, in der Blattmitte klumpig.

K-freie Pflanzen

Sie waren kaum gefärbt. Die Rippe blieb stets grün. Auch bei Pflanzen, die längere Zeit in der Nährlösung gelegen hatten, war die Farbe grün. Nur im oberen Drittel war das Blatt schwach violett-rosa-gelb gefärbt. Der Niederschlag war nur in der äußersten Randzone.

Beim Einlegen in Neutralrot überwiegen also an normalen Pflanzen die Farben blutrot-violett, an Ca-freien rosa-blaßrotbraun, an N-freien rosa-gelb-violett, an P-freien rosa-grünbraungelb und an K-freien Pflanzen gelb-grün-violett. Der Farbstoffniederschlag zeigt an Ca- und N-freien Pflanzen verästelte Formen. An Ca-freien Pflanzen tritt außerdem Vakuolenkontraktion ein.

4. Plasmolyseverhalten

a) In 0,5 Mol KCl

Normale Pflanzen

In Zellen von Pflanzen aus vollständiger Nährlösung geht die Plasmolyse mit 0,5 Mol KCl ziemlich „schwer“ vor sich. Das Ablösen erfolgt langsam. Durch zahlreiche Fäden bleibt der Protoplast mit der Membran verbunden. Doch diese Fäden werden bald eingezogen, die konkave Plasmolyse geht in eine konvexe über. Nach ungefähr 30' ist die Plasmolyse perfekt. Am spätesten wird eine Insel unter der Spitze plasmolysiert. Die Zellen bleiben etwas über zwei Stunden im Plasmolytikum am Leben. Ganz selten ertrugen sie ein längeres Einwirken der Lösung. Keine vollkommene Deplasmolyse, sondern Platzen der Protoplasten.

Im Sommer und Herbst ist das Loslösen weniger verkrampft. Die Plasmolysezeit ist etwas kürzer. Ebenso blieben die Blätter wesentlich kürzere Zeit im Plasmolytikum am Leben.

Ca-freie Pflanzen

Der Protoplast löst sich sofort von der Membran. Er ist manchmal etwas eckig, meist aber sofort rund. Die Plasmolysezeit ist also sehr kurz, meist sogar null. Die Plasmolyse schreitet vom Rand nach der Mitte und gleichzeitig von der Spitze zur Basis hin fort. Zuerst wird sie am Blattfeld, später an Rand und Rippe perfekt. In den ersten zwei Wochen ist in 10—15', später durchschnittlich in 3—5' das osmotische Gleichgewicht hergestellt. Bald nachdem die Blätter in die Lösung gelegt wurden begann eine Systrophenbildung. Das Stadium der Zentrierung (Germ) war dabei besonders schön zu beobachten. In der 20.—25.' war die Systrophe vollendet. In einigen Fällen konnte sie allerdings erst nach Stunden beobachtet werden. Die Systrophenbildung war zuerst an der Spitze, seltener an der Basis zu bemerken. Sie blieb manchmal auf bestimmte Zonen beschränkt (oberes Drittel, Rippennähe), in der Mehrzahl der Versuche aber erstreckte sie sich über das ganze Blatt. Ein Zurückgehen der Plasmolyse konnte nie beobachtet werden, nach einiger Zeit schrumpfte der Protoplast, oder er platzte. Die Zeit bis zum Absterben im Plasmolytikum war verschieden lang. Im Frühjahr blieben die Blätter durchschnittlich 4—5 Stunden am Leben, ja waren die Blätter erst einige Tage in der Ca-freien Nährlösung gewesen, konnten sie 2—3 Tage im Plasmolytikum liegen. Waren die Pflanzen 2—3 Wochen in der Nährlösung, starben sie nach 2—1 Stunde. Im Herbst waren auch Blätter von Pflanzen, die erst bis 10 Tage in der Nährlösung waren, nach 1—1^h20' tot. In der 2.—3. Woche starben sie schon nach 15'. In diesen Fällen trat auch keine Systrophenbildung ein. Zeigten die Zellen vor dem Einlegen in das Plasmolytikum Protoplasmaströmung, so hielt diese auch während der Plasmolyse einige Zeit an,

N-freie Pflanzen

Der Protoplast hebt sich sofort konvex und ohne Bildung von Fäden von der Membran ab. In 10—15' ist die Plasmolyse am Blattfeld perfekt. Etwas später folgen Rand und Rippe. Die Plasmolyse beginnt an der Spitze am Rand und schreitet von hier nach der Mitte fort. Nach ungefähr $\frac{1}{2}$ Stunde setzt Systrophenbildung ein. Sie bleibt meist auf das obere Drittel des Blattes beschränkt. Keine Deplasmolyse; die Protoplasten platzen. Die ersten Zellen sind nach 3—5 Stunden tot. Nach wenigen Minuten sind dann auch alle übrigen Zellen abgestorben. Pflanzen, die erst kurze Zeit in der Nährlösung gewesen waren, konnten bis zu 30 Stunden in der plasmolysierenden Lösung bleiben, ehe sie starben. Im Herbst blieben die Blätter bei gleicher Plasmolysezeit viel weniger lang im Plasmolytikum am Leben. In den beiden ersten Wochen waren sie nach 2 Stunden, in der 3. Woche nach 15—20' tot.

P-freie Pflanzen

Das Loslösen erfolgt ziemlich schwer, erst nach ungefähr 20' wird der Protoplast konvex. Nach einer Stunde ist die Plasmolyse perfekt. Tritt Systrophenbildung ein, bleibt sie auf die mittlere Blattzone beschränkt, und auch hier reicht sie nur über die Hälfte des Blattes. Die Plasmolyse ist zuerst am Rand zu beobachten; später tritt sie im oberen Drittel ein. Die Zellen bleiben ungefähr 2—5 Stunden am Leben, dann platzen die Protoplasten. Waren die Pflanzen etwa drei Wochen in der Nährlösung, löst sich der Protoplast viel leichter von der Membran und ist gleich konvex. Die Zellen sterben nach 1—2 Stunden. Im Herbst ist die Plasmolysezeit für Zellen von Pflanzen, die 2—3 Wochen in der Nährlösung waren, gleich null, nach 2 Stunden sind sie tot. Bei gleicher Plasmolysezeit starben die Pflanzen später schon nach 15—20'.

K-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist konkav mit Fäden. Das Loslösen von der Membran erfolgt ziemlich schwer. Nach 20—30' beginnt der Protoplast konvex zu werden. Bis zum Tod vergehen 2—5 Stunden. Waren die Pflanzen 2—3 Wochen in der Nährlösung, geht das Loslösen etwas leichter vor sich. Der Protoplast rundet sich bald ab, die Plasmolyse ist schon nach 15—20' perfekt. Systrophenbildung ist nur selten zu beobachten. Das Blatt stirbt nach 1—3 Stunden. Die Plasmolysezeit beträgt im Herbst in den ersten 2 Wochen 5—10', in 30—40' ist die Plasmolyse perfekt. Das Absterben erfolgt nach 2 Stunden. Später ist die Plasmolysezeit null, nach 50' sind die Zellen tot.

b) In 1,0 Mol KCl

Normale Pflanzen

Der Protoplast ist arg zerrissen. Die Chloroplasten werden zu kleinen Häufchen zusammengedrückt, der Protoplast löst sich sehr schwer und bildet unzählige verästelte Füßchen, die nur ganz langsam eingezogen werden. Vom Rand nach der Mitte geht die Plasmolyseform von konkav in konvex über; dazu vergeht etwas mehr als eine Stunde. Im Sommer erfolgte das Loslösen ebenso.

schwer. Wieder wurden zahlreiche Füßchen gebildet. Aber die Zeit, in der der Protoplast konvexe Form annahm, war viel kürzer. Sie schwankte zwischen 15—30'. Die Blätter blieben ungefähr 1^b30' bis 2^b am Leben, dann platzte der Protoplast. Im Herbst gingen die Blätter viel früher ein; sie blieben nur mehr 10—15' am Leben.

Ca-freie Pflanzen

Der Protoplast ist nach 1' abgerundet, in 5' ist die Plasmolyse perfekt. Oft zerfällt der Protoplast in zwei Kugeln. Keine Deplasmolyse. Waren die Pflanzen erst kurze Zeit in der Nährlösung (1—2 Wochen), bleiben die Blätter bis 1^b30' lebend. Später gehen sie nach einer Behandlung von 30' ein. Im Herbst ist die Plasmolysezeit null. In den ersten zwei Wochen ertragen die Blätter das Plasmolytikum ungefähr 40—50', später sind sie nach 10' tot.

N-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist arg verkrampft, doch schon nach wenigen Minuten wird sie konvex. Vom Rand nach der Mitte hin kugeln sich die Protoplasten langsam ab. In 10—15' ist die Plasmolyse am ganzen Blatt perfekt. Tod durch Platzen der Protoplasten nach 2¹/₂—3 Stunden. Schon in der zweiten Woche löst sich der Protoplast sofort glatt und konvex von der Membran. Die Blätter ertragen die Lösung nimmer so lange. Sie sind nach 2 Stunden, später schon nach 15' tot. Am längsten blieb die Rippe am Leben.

P-freie Pflanzen

Die Chloroplasten sind zu kleinen Haufen geballt. Die Plasmolyse ist eckig mit Fäden. An der Spitze rundet sich der Protoplast zuerst ab. Die Plasmolysezeit beträgt 30—40'. In einer Stunde sind die Blätter tot. Später wird die Plasmolysezeit gleich null. Ebenso ist im Herbst die Plasmolysezeit null, bis zum Absterben vergehen 30'.

K-freie Pflanzen

Die Zellen sehen arg beschädigt aus. An der Spitze, und zwar meist nur hier, werden die Protoplasten konvex (30'). Die Blätter gehen in den ersten Wochen nach 2 Stunden, später nach 40—50' ein. Im Herbst beträgt die Plasmolysezeit 2—3', nach 30', später nach 15—18' sind sie tot.

Die Plasmolyse in 1,0 Mol KCl unterscheidet sich nur graduell von der in 0,5 Mol KCl. Die Plasmolysezeit ist bei den Mangelpflanzen viel geringer als bei normalen. Sie steigt nach der Reihe: Ca-, N-, P-, K-freie normale Pflanzen. Bei Plasmolyse mit 0,5 Mol KCl ist in den Zellen Ca- und N-freier, seltener in Zellen P- und K-freier Pflanzen Systrophe zu beobachten. Das Abrunden der Protoplaste erfolgt an Blättern normaler und K-freier Pflanzen von der Blattbasis zur Spitze, an allen übrigen Pflanzen vom Rand zur Mitte.

c) In 0,5 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Die Plasmolyse tritt zuerst in der Nähe toter Zellen ein, dann an der Basis, am Rand gegen die Mitte hin. Meist erreicht sie nur einen schwachen Grad.

Sie wird nur wenig stärker als Grenzplasmolyse. Die Rippe wird nicht plasmolysiert. Der Protoplast hebt sich erst nach 5—7' von der Membran ab. Die Plasmolyse geht bald wieder zurück, und zwar zuerst an der Spitze, dann an der Basis. In 20—40' ist das ganze Blatt deplasmolysiert. Im Herbst tritt die Plasmolyse schneller ein; nach einer Minute zeigte das ganze Blatt etwas mehr als Grenzplasmolyse. Wiederum trat nach 20' in der oberen Hälfte Deplasmolyse ein, in 50' war auch an der Basis keine Plasmolyse mehr zu beobachten.

Ca-freie Pflanzen

Das Blatt ist sofort plasmolysiert. Der Protoplast hebt sich konvex und ohne Fäden zu bilden von der Membran: doch wird die Plasmolyse nur etwas stärker als Grenzplasmolyse. Amphinekrotische Zellen sind zuerst und auch etwas stärker plasmolysiert. Nach 40—30' geht die Plasmolyse zurück, später auch schon nach 20'. Haben die Pflanzen längere Zeit in der Nährlösung gelegen, tritt bei Behandlung mit 0,5 Mol Harnstoff keine Plasmolyse ein.

N-freie Pflanzen

Der Protoplast hebt sich nach 1' von der Membran. Die Plasmolyse wird nur wenig stärker als Grenzplasmolyse und geht bald wieder zurück. In 40' ist das Blatt deplasmolysiert. An der Spitze geht die Plasmolyse schneller zurück als an der Basis. Manchmal konnte auch Systrophenbildung beobachtet werden.

P-freie Pflanzen

Die Plasmolyse tritt sofort ein, und zwar von der Basis nach der Spitze hin. Sie ist etwas stärker als Grenzplasmolyse. Nach 35—40' beginnt an der Spitze die Deplasmolyse, die nach einigen Minuten beendet ist. An der Basis ist meist Systrophenbildung zu beobachten. Doch kommen nur leichte Anhäufungen von Chloroplasten zustande.

K-freie Pflanzen

Nach 1' tritt Plasmolyse ein. Sie wird kaum stärker als Grenzplasmolyse. Nach 20' ist das Blatt wieder deplasmolysiert. Die Deplasmolyse beginnt manchmal an der Basis, sie kann aber auch an der Spitze zuerst eintreten.

Die Plasmolysezeit ist an allen Mangelpflanzen bedeutend geringer als an normalen. Plasmolyseform, Plasmolysegrad und Deplasmolysezeit ist jedoch an allen Pflanzen annähernd gleich.

d) In 0,1 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Die Plasmolyse ist sofort ziemlich stark. In der oberen Hälfte bleibt sie etwas schwächer. Nach einer Stunde oder auch etwas später beginnt die Deplasmolyse. Manchmal tritt keine Deplasmolyse ein; die Protoplasten platzen. Nach 1½ Stunden ist das Blatt meist tot.

Ca-freie Pflanzen

Die Rippe ist nie plasmolysiert. Am Blattfeld beginnt die Plasmolyse an der Basis. Während sie hier einen ziemlich hohen Grad erreicht, wird sie an der Spitze nur wenig stärker als Grenzplasmolyse. Nach 30' geht die Plasmolyse an der Spitze zurück, bald ist das ganze Blatt deplasmolysiert.

N-freie Pflanzen

An der Blattbasis ist die Plasmolyse sofort ziemlich stark, an der Spitze wird sie nur wenig stärker als Grenzplasmolyse. Die Rippe ist nie plasmolysiert. Oft konnte Systrophienbildung beobachtet werden. Nach einer Stunde zeigt die Spitze keine Plasmolyse mehr. Die Protoplasten sind geplatzt. Die Basis stirbt etwas später.

P-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist zuerst etwas eckig, erst nach 2—5' rundet sich der Protoplast ab. In 20—30' ist das Blatt bis auf eine Insel unter der Spitze perfekt, und zwar ziemlich stark plasmolysiert. Keine Deplasmolyse, sondern Platzen der Protoplasten nach ungefähr einer Stunde. Manchmal Beginn einer Systrophienbildung in der oberen Blatthälfte. Es kommt aber nur zu lockeren Chloroplastenanhäufungen, die bald wieder vergehen.

K-freie Pflanzen

Das Blatt ist sofort plasmolysiert. Nach 40—60' tritt Deplasmolyse ein. War die Pflanze schon längere Zeit in der Nährlösung, tritt die Deplasmolyse früher ein.

Die Plasmolysezeit nimmt zu nach der Reihe: Ca-, N-, P-, K-frei — normal ernährte Pflanzen. Der Plasmolysegrad ist überall derselbe. Deplasmolyse in Zellen Ca- und K-freien, Systrophienbildung in Zellen N- und P-freier Pflanzen. Kürzere Deplasmolysezeit stärker geschädigter Zellen.

e) In 1,5 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Der Protoplast sieht anfangs etwas zerrissen aus, ist aber schon nach 3—5' abgerundet. Nach 1^h50'—1^h20' ist das Blatt tot. Meist platzen die Protoplasten, selten tritt Deplasmolyse ein.

Ca-freie Pflanzen

Das Blatt wird sofort, Basisspitze, Randmitte, plasmolysiert. Keine Deplasmolyse. Der Protoplast schrumpft ganz plötzlich ein. Anfangs erfolgt dieses Schrumpfen nach ungefähr einer Stunde, später sind die Zellen nach 30—20' tot.

N-freie Pflanzen

Das Blatt ist sofort bis auf eine Insel unter der Spitze plasmolysiert. Die Rippe stirbt zuerst ab. Von der Spitze zur Basis platzen die Protoplasten. Nach ungefähr 1^h30' sind die Zellen tot.

P-freie Pflanzen

Der Protoplast ist sehr zerrissen und löst sich nur schwer von der Membran. Er rundet sich aber schon nach 2' ab. Im Durchschnitt erträgt das Blatt eine Behandlung von 1^b20'. Dann platzen die Protoplasten, die Zellen sterben.

K-freie Pflanzen

Die Chloroplasten sind zu kleinen Häufchen zusammengetreten, der Protoplast löst sich nur schwer von der Membran ab. Trotzdem ist er nach 2' schon abgerundet. Nach ungefähr 1^b30' platzen die Protoplasten.

Die Plasmolyseform ist an Ca- und N-freien Pflanzen konvex, an allen übrigen konkav. Keine Deplasmolyse, sondern Platzen der Protoplasten.

f) In 0,5 Mol CaCl₂

Normale Pflanzen

Pflanzen, die erst kurze Zeit in der Nährlösung gelegen sind, werden durch 0,5 Mol CaCl₂ nur schwach plasmolysiert. An der Spitze des Blattes hebt sich der Protoplast kaum von der Membran ab. Die Plasmolyse bleibt jedoch lange erhalten. Später rundet sich der Protoplast stärker ab, bis auf eine Insel unter der Spitze, die weniger stark plasmolysiert bleibt. Je nach der Jahreszeit bleiben die Blätter verschieden lang im Plasmolytikum am Leben. Im Sommer waren nach 45' die ersten Zellen, an der Spitze, tot. Im Herbst bildete sich Systrophe; es trat keine Deplasmolyse ein. Rippe und Rand starben zuerst. Das Blattfeld war nach 17 Stunden noch schön plasmolysiert und zeigte schöne Systrophe.

Ca-freie Pflanzen

War im Blatt Protoplasmaströmung zu beobachten, so wird diese verstärkt. Erst nach 25' ist an der Basis Grenzplasmolyse. Pflanzen, die schon längere Zeit in der Nährlösung waren, wurden schneller und stärker plasmolysiert. Die Plasmolyse war zuerst an amphinekrotischen Zellen zu beobachten. Nach 20' war auch Rippe und Rand plasmolysiert. Die Plasmolyse ging sehr langsam zurück. Nach 17 Stunden war am ganzen Blatt noch Grenzplasmolyse. Rand und Rippe waren noch sehr schön plasmolysiert. Am ganzen Blatt war schöne Systrophe.

N-freie Pflanzen

An Pflanzen, die erst kurze Zeit in Lösung waren, tritt die Plasmolyse etwas später ein; waren sie schon länger darinnen, löst sich der Protoplast sofort konvex von der Membran. Nach 17 Stunden war die Blattbasis noch schön plasmolysiert, die Spitze zeigte Grenzplasmolyse. Am ganzen Blatt war Systrophe. Keine Deplasmolyse an Pflanzen, die lange in Nährlösung waren, sondern Platzen der Protoplasten.

P-freie Pflanzen

Anfangs tritt erst nach 20' ungefähr Grenzplasmolyse ein; später hat sich der Protoplast schon nach einer Minute von der Membran gelöst. An der Basis ist die Plasmolyse ziemlich stark, an der Spitze ist sie etwas schwächer. Die

Pflanzen vermögen je nach der Dauer der Kultur im Plasmolytikum am Leben zu bleiben (17 Stunden — 1^h30'). Keine Deplasmolyse.

K-freie Pflanzen

Keine Plasmolyse an Pflanzen, die erst kurze Zeit in Nährlösung waren. Später ist das Blatt schon nach 1' schön plasmolysiert. Systrophenbildung. Deplasmolyse.

g) In 1,0 Mol CaCl₂

Normale Pflanzen

Der Protoplast löst sich eckig von der Membran, rundet sich jedoch nach wenigen Minuten ab. Waren die Pflanzen erst kurze Zeit in der Nährlösung, vermögen sie ungefähr 1 Tag im Plasmolytikum am Leben zu bleiben. Es bildet sich eine herrliche Systrophe. Keine Deplasmolyse; die Protoplasten platzen. Zuerst sterben Rippe und Rand.

Ca-freie Pflanzen

Die Plasmolyse beginnt etwas eckig, wird aber sofort konvex. Nach 10 bis 20' ist das ganze Blatt perfekt, und zwar ziemlich stark plasmolysiert. Bald setzt Systrophenbildung ein, die nach 40' beendet ist. War das Blatt noch nicht lange in der Nährlösung, bleiben Systrophe und Plasmolyse bis zu 20 Stunden erhalten. Keine Deplasmolyse; Platzen der Chloroplasten. Waren die Pflanzen länger in der Nährlösung, unterbleibt die Systrophenbildung, die Zellen sind nach 30' tot. Rippe und Rand sterben zuerst.

N-freie Pflanzen

Der Protoplast löst sich etwas schwer von der Membran, wird aber gleich konvex. Später erfolgt das Loslösen leichter. Systrophenbildung. Nach 23 Stunden ist sowohl Plasmolyse als auch Systrophe wunderschön. Nur die unterste Basis ist bereits tot.

P-freie Pflanzen

Der Protoplast ist zerrissen. Die Plasmolyse bleibt unten eckig, nur in der oberen Hälfte wird sie konvex. Nach einer Stunde ist das Blatt tot. Waren die Pflanzen länger in der Nährlösung, löst sich der Protoplast sofort konvex von der Membran. Es tritt Systrophenbildung ein, die in der 15. Minute vollendet ist. Nach 23 Stunden sind Plasmolyse und Systrophe noch wunderschön, es sind erst ganz wenige Zellen tot. Keine Deplasmolyse, sondern Platzen der Protoplasten.

K-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist etwas verkrampft; erst nach ungefähr 30' wird sie konvex. Nach einstündiger Behandlung ist das Blatt tot. War die Pflanze schon länger in der Nährlösung, rundet sich der Protoplast gleich ab. Nach 30' setzt Systrophenbildung ein. Plasmolyse und Systrophe bleiben lange erhalten. Nach 23 Stunden ist erst die Basis tot.

Die Plasmolysezeit steigt nach der Reihe: Ca-, N-, P-, K-freie normale Pflanzen. Die Systrophenbildung tritt an allen Mangelpflanzen früher auf als in den normalen. In 1,0 Mol CaCl_2 ist die Plasmolyseform vollkommen und K-frei ernährter Pflanzen konkav, an allen übrigen konvex.

5. Resistenz

a) Gegen Alkohol

Es ist schon lange bekannt, daß die pflanzliche Zelle durch Einwirkung von Alkohol, selbst bei geringer Konzentration, auf das empfindlichste geschädigt wird. Nach Czapek (1911) ist diese Wirkung des Alkohols in seiner Oberflächenaktivität gelegen. Eine Alkohol-lösung stört die normale Permeabilität der Plasmahaut, wenn ihre Oberflächenspannung geringer ist als die der Plasmaoberfläche. Diese Ansicht wurde jedoch von verschiedenen Seiten kritisiert (vgl. Stiles 1924). Nach Lepeschkin (1928) entziehen die Alkohole den Eiweißkörpern das Wasser und erteilen ihnen hydrophobe Eigenschaften. Elektrolyte, die in der Lösung vorhanden sind, können sie zur Koagulation bringen. Diese Koagulation der denaturierten Eiweißkörper wird wiederum durch Alkohol beschleunigt. Aus den neuesten Versuchen von Lepeschkin (1935) geht hervor, daß Äthylalkohol in geringer Konzentration nur auf das Dispersionsmittel des Plasma wirkt und erst in stärkerer Konzentration eine Koagulation der dispersen Phase des Plasmas hervorruft. Daß die schädigende Wirkung des Alkohols eine bestimmte Abhängigkeit vom Alter des Objekts aufweist, versucht Collins (1931) zu zeigen, der bei verschiedenen alten *Helodea*-Blättern feststellen konnte, daß die Widerstandsfähigkeit gegen Gifte mit zunehmendem Alter abnähme. An der Blattspitze, also dem relativ ältesten Teile des Blattes, ist die Wirkung zuerst tödlich. Er sieht die Ursache für dieses Verhalten in dem niederen osmotischen Werte dieser Zellen. Im Gegensatz dazu fand Weber (1933) an *Spirogyra*, daß gerade die älteren Zellen gegen Alkohol weniger sensibel seien als die jüngeren. In den niederen Konzentrationen ist Alkohol erst nach längerem Einwirken für das Protoplasma der Pflanze schädlich. Bei kürzerer Einwirkung erhöht er dagegen die Resistenz des Plasmas gegen mechanische Eingriffe. Er dringt sehr schnell in die Zelle ein und tritt aus ihr manchmal sogar rascher aus als Wasser (Holdheide 1931). Nach Collander und Bärlund (1933) wird durch Alkohol die Permeabilität des Protoplasmas für Wasser beeinflusst.

Seifrizz (1923) untersuchte die Resistenz des *Helodea*-Blattes gegen Alkohol und machte dabei zum ersten Male die Beobachtung, daß sich gewisse Blattzonen verschieden verhalten. In einer Lösung von 10 % Äthylalkohol starben nach einer Behandlung von:

15'	0,1 %	sämtlicher Zellen
20'	1,0 %	„ „
30'	60,0 %	„ „
1h	80,0 %	„ „
2h	95,0 %	„ „

Eine kurze andauernde Behandlung mit Alkohol hatte eine Verminderung des osmotischen Druckes, kenntlich an einer Erhöhung der Permeabilität, zur Folge. Bei längerem Einwirken erreichte der osmotische Druck jedoch wieder die Höhe der nichtbehandelten Zellen. Außer dieser vorübergehenden Permeabilitätserhöhung bewirkte Alkohol auch noch ein Schwächerwerden und schließlich sogar einen Stillstand der Protoplasmaströmung.

Um die Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol zu prüfen, wurden Lösungen von 1–10 % Äthylalkohol hergestellt. Gleichaltrige und auch sonst gleichwertige Blätter eines oder benachbarter Wirtel wurden nun in geschlossenen Gläschen der Einwirkung dieser Lösungen ausgesetzt und von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop besehen. Stets konnte ein Einsetzen oder eine Verstärkung der Protoplasmaströmung beobachtet werden. Doch ließ diese Strö-

mung mit der Zeit wieder nach. Bei stärkeren Konzentrationen starben die Blätter ab. Stark verquollene Chloroplasten und grobkörniges Plasma ließen tote Zellen leicht erkennen. Geringe Konzentrationen (1—3 %) ließen die Blätter anscheinend ganz unbeschädigt. Sie blieben lange lebend und zeigten keinerlei abnormales Verhalten. Um das Eindringen nach Zonen festzustellen, wurden die Blätter in kurzen Zeitabständen aus der Alkohollösung genommen und mit 0,5 Mol KCl plasmolysiert.

Normale Pflanzen

Die Chloroplasten nehmen eine epistrophe Lage ein, das Plasma beginnt zu strömen. Meist zieht der Strom regellos durch die Zelle, seltener ist es ein Rotationsstrom. Die Chloroplasten werden mitgerissen und oft auf einen Klumpen zusammengetragen. Es scheint eine Systrophenbildung mit Zentrierung (Germ 1925) einzusetzen. Das Plasma sammelt sich jedoch nicht; es strömt weiter. Dabei werden auch die Chloroplasten wieder auseinander getrieben. Am längsten bleiben solche Ballungen an der Basis, in der Nähe der Mittelrippe erhalten. Die Blätter zeigten sich im Frühjahr gegen den Einfluß von Alkohol bedeutend widerstandsfähiger als im Herbst. Starben im Frühjahr die ersten Zellen nach zwei Stunden und war das Blatt nach drei Stunden tot, ertrugen sie im Herbst nur eine Behandlung von einer Stunde. Das Absterben erfolgte meist gleichmäßig vom Rand zur Rippe hin. Doch traten auch kleine Abänderungen dieses Gradienten auf; so kam es z. B. öfter vor, daß eine mittlere Zone des Blattes zuerst abstarb (Übereinstimmung mit Seifriz). Basis und Rippe blieben in allen Fällen am längsten lebend.

Ca-freie Pflanzen

Die Plasmaströmung, die in Ca-freien Zellen stets zu beobachten war, wird durch die Einwirkung des Äthylalkohols (6—8 %) verstärkt. Es ist ein Rotationsstrom und führt zu keinerlei Anhäufung von Chloroplasten. Die Zellen erweisen sich gegen die schädigende Wirkung des Alkohols bei einer Konzentration von 6—8 % ziemlich resistent. Nach 3 Stunden ist noch ungefähr die Hälfte der Zellen am Leben. Im Herbst vermögen gleich alte Blätter dem Alkohol weniger lange standzuhalten. Blätter, die im Verhältnis noch recht gut aussehen, also noch ihren Turgor besitzen, sind dann nach $2\frac{1}{2}$ Stunden tot, Blätter, die ihren Turgor bereits verloren haben, sterben nach einer Stunde. An jüngeren Blättern erfolgt das Absterben meist vom Rand nach der Mitte hin, an älteren, d. h. geschädigten Blättern, von der Spitze zur Basis.

N-freie Pflanzen

Die Plasmaströmung wird verstärkt an der Basis, in der Nähe der Mittelrippe kommt es zu Ballungen der Chloroplasten. Die Blätter vermögen ungefähr 4 Stunden in der Lösung am Leben zu bleiben. Im Herbst vertragen sie sie nur $1\frac{1}{2}$ Stunden. Am wenigsten resistent sind die zwei Inseln unter der Spitze, am meisten Rippen- und Basiszellen.

P-freie Pflanzen

Im mittleren Teile des Blattes setzt meist Systrophenbildung ein, die aber infolge der Plasmaströmung nicht vollendet wird. Die Blätter sind recht wider-

standsfähig und vermögen im Sommer bis über 4, im Herbst bis zu 2 Stunden in der Lösung am Leben zu bleiben. Das Absterben erfolgt vom Rand nach der Mitte hin, doch wird dieser Gradient meist etwas abgeändert. Stärker geschädigte Blätter sterben meist von der Spitze zur Basis.

K-freie Pflanzen

In K-freier Nährlösung gezogene Pflanzen halten einer Alkoholbehandlung von 50' stand. Diese Zeit bleibt während der ganzen Versuchsdauer ziemlich gleich. Auch bei ihnen erfolgt das Absterben an jüngeren, gesunderen Blättern vom Rand zur Mitte hin, an stärker geschädigten von der Spitze nach der Basis.

Die Empfindlichkeit gegen Alkohol nimmt also in folgender Reihe ab: K-freie > normale > Ca- > P- > N-freie Pflanzen. An vollkommen und K-frei ernährten Pflanzen kommt es zu systrophischen Inhaltsverlagerungen. Das Absterben erfolgt an normalen und weniger geschädigten Blättern vom Blattrand zur Mitte, an stärker geschädigten von der Spitze zur Basis. Eine Darstellung der Gradienten siehe Figur 6—15.

b) Resistenz gegen Säure

Säure gehört zu den stärksten Plasmagiften. Nach Sakamura (1922) und Bode (1926) sterben auch die resistentesten *Spirogyra*-Arten, wenn das pH des Kulturwassers auf 4 fällt, manche sterben sogar schon bei einem pH von 5—7 (Lepeschkin). Kahlenberg und Frue (1896) schreiben diese Wirkung den H-Ionen zu. Später zeigte sich aber, daß die Giftigkeit der Säuren mit ihrem H-Ionengehalt nicht vollständig parallel geht. Schwache Elektrolyten sind meist giftiger als es ihrer Stärke entspricht. Overton (1902) erklärt dies Verhalten durch verschiedene Lipoidlöslichkeit. Seine Ansicht wurde von Loeb (1909) bestätigt. Dieser fand, daß organische Säuren für die Entwicklung von Seegeleiern giftiger sind als Mineralsäuren; organische Säuren sind bekanntlich lipoidlöslicher. Brenner (1917) fand die Giftigkeit verschiedener Säuren (Salz-, Salpeter-, Schwefel-, Phosphorsäure u. a.) von ihrer H-Ionenkonzentration abhängig, die Wirkung von Milch-, China- und Gallussäure bei niedriger Konzentration sucht er durch Permeabilitätsunterschiede zu erklären. Traube und Somoggi (1921) erklären das abweichende Verhalten von Säuren durch ihre starke Oberflächenaktivität; sie erniedrigen die Oberflächenspannung besonders stark. Czapeks (1911) Meinung, nach der die Wirkung nur von der Oberflächenspannung abhängig ist, konnte aber nicht bestätigt werden. Nach Lepeschkin (1923) werden durch Säuren starker Konzentration Eiweißlösungen chemisch verändert; sie bilden mit ihnen Acidalbumine. Außerdem beschleunigen sie die Denaturation der Eiweißkörper sehr stark. In geringeren Konzentrationen beschleunigen sie nur die Denaturation. In beiden Fällen wirken sie direkt auf das Dispersionsmittel des Plasmas und zerstören es (Lepeschkin 1927). Die Wirkung der Säure ist also gleich der Wirkung hoher Temperatur. Die Geschwindigkeit des Eindringens der Säure hängt nach Gompel (1925) nicht nur von der Konzentration und Natur der Säure ab, sondern auch vom Zustand der Zelle.

Die Säureresistenz des *Helodea*-Blattes wurde von Weber (1932) untersucht. Er fand „die Zellen der Rippe am meisten resistent, dann folgten die Zellen der Basis und des Randes, schließlich das übrige Feld“.

Um also die Widerstandsfähigkeit gegen Säure zu prüfen, wurden die Blätter eines oder benachbarter Wirtel in eine Lösung von 1 oder 2 Tropfen Normallessigsäure auf 100 ccm Wasser gegeben. Bei orientierenden Versuchen mit stärkeren Lösungen (4 Tropfen auf 100 ccm Wasser), waren auch Pflanzen aus vollständiger Nährlösung bereits nach 5' tot. Sie wurden

einige Zeit in geschlossenen Gläschen der Einwirkung der Säure ausgesetzt und dann untersucht. Getötete Zellen waren sofort an den verquollenen Chloroplasten, die, ohne scharf umgrenzt zu sein, ineinander übergingen, und an dem stark granulären Plasma zu erkennen. Zur Sicherheit aber und vor allem um die abgestorbenen Zonen deutlich umgrenzt zu sehen, wurde nach der Säurebehandlung mit 0,5 Mol KCl plasmolysiert. Am wenigsten resistent war bei allen Pflanzen das Blattfeld. Dann folgte der Rand und schließlich die Rippe. Im Herbst waren alle Pflanzen gegen die Einwirkung der Säure weniger resistent.

Die Versuche erstreckten sich über die ersten 4 Wochen nach dem Einlegen der Sprosse in die verschiedenen Nährlösungen.

Normale Pflanzen

Pflanzen aus vollständiger Nährlösung ertrugen in den ersten 2 Wochen eine Behandlung von ungefähr 15—18'. Von der 3. Woche an blieb die Widerstandsfähigkeit fast dieselbe, also 18'. Die Wirkung der Säure war zuerst an den beiden Inseln unter der Spitze tödlich. Die Resistenz des Blattfeldes nahm von der Spitze zur Basis hin zu.

Ca-freie Pflanzen

Die Blätter Ca-freier Pflanzen hatten während der ersten Versuche dieselbe Widerstandskraft als die Blätter von Pflanzen aus vollständiger Nährlösung. Diese Resistenz nahm jedoch beständig und ziemlich regelmäßig ab, so daß in der 3. Woche die Blätter gleich nach dem Einlegen in die Säure tot waren. In den ersten Versuchen war der Gradient der gleiche wie bei vollkommen ernährten Pflanzen. Stärker geschädigte Blätter starben meist zuerst an der Randzone, zuletzt an der Blattmitte.

N-freie Pflanzen

Die Resistenz N-frei gezogener Pflanzen war von allem Anfang an geringer als die normal ernährter Pflanzen. Sie ertrugen die Einwirkung der Säure durchschnittlich 2—3' weniger lang; also etwa 12—13'. Die Empfindlichkeit nahm ständig zu. In der 4. Woche waren die Blätter sofort nach dem Einlegen in die Säure tot. Sie starben vom Rand nach der Mitte, doch war dieser Gradient oft etwas abgeändert.

P-freie Pflanzen

Bei Pflanzen, die aus P-freiem Medium stammten, war die Resistenz in den ersten Tagen dieselbe wie bei normal ernährten Pflanzen. Sie nahm aber ziemlich langsam und regelmäßig ab. Blieben die Pflanzen in den ersten Wochen durchschnittlich 15' am Leben, waren sie in der 3. bereits nach 10' tot. Das Absterben erfolgte vom Rand nach der Mitte hin.

K-freie Pflanzen

Ihre Empfindlichkeit gegen Säure war bei den ersten Versuchen etwas größer als die normaler Pflanzen. Sie nahm aber ständig zu, so daß die Blätter in der 4. Woche nur mehr 7—8' in der Lösung am Leben blieben.

Die Empfindlichkeit gegen Säure nimmt also ab nach der Reihe: N- > Ca- > K- > P-freie > normale Pflanzen. Der besseren Übersicht wegen ist die Resistenz der verschiedenen Pflanzen auf Fig. 1—5 in Kurven dargestellt.

c) Resistenz gegen Hitze

Die ersten umfassenden Versuche über die Hitzeresistenz der Pflanze wurden von Sachs (1864) angestellt. Er fand, daß sämtliche von ihm untersuchte Pflanzen bei einer Temperatur von 50°C nach $10'$ getötet, oder doch schon schwer geschädigt waren. Bei einer Temperatur von $49\text{--}50^{\circ}\text{C}$ blieben sie dagegen bedeutend länger am Leben. Seine Beobach-

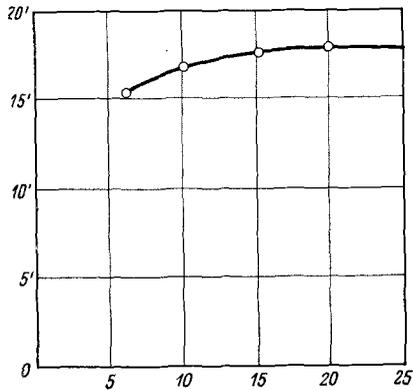


Fig. 1. Resistenz normaler Pflanzen.

tungen wurden von de Vries (1870) bestätigt. Die folgenden Angaben über die Höhe der Tötungstemperatur der Pflanzen sind weniger einheitlich. So fand z. B. Vouk (1923) für einige Thermalalgen, MacDougal (1922) für Sukkulente bedeutend höhere, Lundegårdh (1924) für Kartoffeln und Molisch (1926) für die Alge *Hydrurus foetidus* wesentlich niedrigere Temperaturen als die von Sachs (1864) beobachteten. Aus allen Angaben geht hervor, daß die Tötungstemperatur in großem Maße von der Erhitzungszeit abhängig ist. Lepeschkin (1912), Ayres (1916) und Collander (1924) konnten nun feststellen, daß der Tötungskoeffizient der Pflanzen sehr hoch ist und daß die Kurve, die die Zeitabhängigkeit der Tötungstemperatur darstellt, ungefähr logarithmischen Verlauf hat.

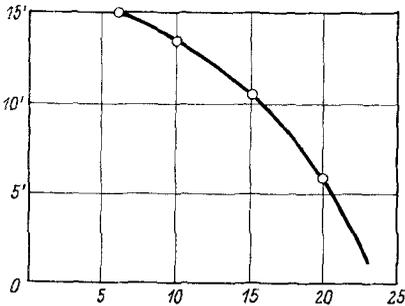


Fig. 2. Resistenz Ca-freier Pflanzen.

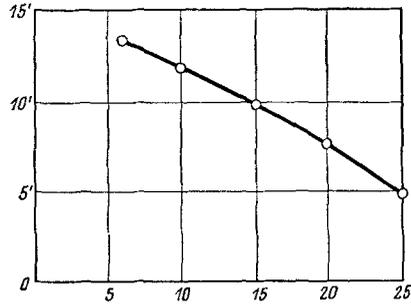


Fig. 3. Resistenz N-freier Pflanzen.

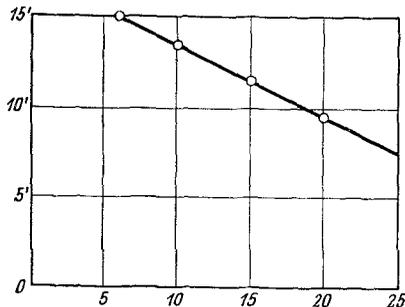


Fig. 4. Resistenz P-freier Pflanzen.

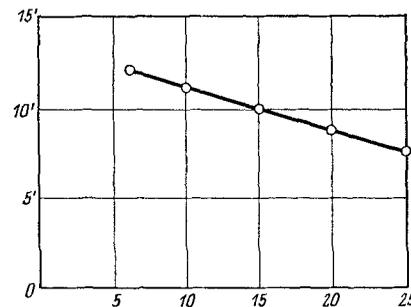


Fig. 5. Resistenz K-freier Pflanzen.

Säureresistenz der verschieden ernährten Pflanzen. Auf der Ordinate ist die Zeit aufgetragen, die die Pflanzen in der Säure am Leben blieben, auf der Abszisse die vorhergehende Kulturdauer in Tagen.

Da schon seit langem bekannt war, daß die Hitzeresistenz lufttrockener Samen und Sporen höher ist als die gequollener, war es interessant zu untersuchen, in welchem Maße die Hitzeresistenz durch innere und äußere Faktoren zu beeinflussen sei. Schon de Vries (1871) hatte durch Plasmolyse eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen Hitze feststellen können. Nun wurde der Einfluß von Alkohol, Lauge, Säure, Salze usw. geprüft. Es sei auf die Arbeiten von Wilhelm (1877), Weber (1926), Mirksy and Anson (1929—30), Lepeschkin (1923), Běláhrádek (1925), Kaho (1923/27), Döring (1923), Sapper (1935) hingewiesen.

Über die Mechanik des Hitzetodes herrschten verschiedene Ansichten. So sah z. B. Heilbrunn (1928) als Ursache des Hitzetodes des Plasmas eine Verschmelzung und Auflösung der Lipoide des Plasmas an. Nun sind wir durch die Arbeiten von Lepeschkin (1912 u. 1927) über den Vorgang beim Absterben durch Hitze ziemlich genau unterrichtet. Aus seinen vergleichenden Arbeiten über Einwirkung hoher Temperatur auf Eiweißkörper und auf lebende Substanz geht hervor, daß „die Ursache der Absterbens der Pflanze bei hoher Temperatur eine Koagulation der Eiweißkörper ist, die sich im Schwinden der Semipermeabilität des Plasmas bemerkbar macht“. Dem Absterben geht ein Verquellen der Stärke voraus; stärkefreie Zellen sterben später als stärkehaltige. An *Spirogyra* konnte Lepeschkin (1912) sogar 4 Stadien des Absterbens beobachten. „Das erste Stadium besteht in einer unsichtbaren Dispersitätsänderung, bemerkbar an einer Zunahme der Permeabilität für Wasser, und einer unbedeutenden Stärkequellung. Im 2. Stadium setzt eine bedeutende Stärkequellung ein, im 3. und 4. Stadium endlich kommt es zu einer vollständigen Koagulation der Chloroplasten und des Protoplasmas.“ Nach der Meinung Illerts (1924) kommt jedoch zu dieser Hitzekoagulation des Eiweißes auch die vergiftende Wirkung des Zellsaftes, die ihrerseits auch die Koagulation beschleunigt. Kaho (1924) untersuchte den Einfluß verschiedener Salze auf die Hitzekoagulation. Er fand dabei, daß Koagulationstemperatur des Plasmas im alkalischen Medium höher, im sauren niedriger als im neutralen sei. Die Alkalisalze fördern die Hitzekoagulation nach der lyotropen Reihe, was Kaho (1924) auf die Permeabilität des Plasma für diese Salze zurückführt. Die am besten permeierenden Salze erniedrigen die Koagulationstemperatur am stärksten.

Über die Hitzeresistenz des *Helodea*-Blattes sind wir durch die Arbeiten von Běláhrádek und Melichar (1925) und in allerletzter Zeit durch Estarak (1935) unterrichtet.

Bei der Empfindlichkeit, mit der das Plasma auf äußere und innere Faktoren reagiert, ist wohl anzunehmen, daß durch die tiefgreifenden Ernährungsunterschiede ein verschiedenes Verhalten der einzelnen Pflanzen gegenüber hoher Temperatur zu beobachten sein werde. Wir stellten uns also die Aufgabe, die Resistenz gegen Hitze zu überprüfen. Gleichaltrige und auch sonst gleichwertige Blätter von Pflanzen aus den verschiedenen Nährlösungen wurden mit der Pinzette vom Sproß gelöst und auf dem Heiztisch nach Reichert erhitzt. Die Temperatur betrug 50° C. In bestimmten Zeitabständen (1—15') wurden die Blätter beobachtet und miteinander verglichen. Da aus dem Aussehen der Chloroplasten allein nicht mit Sicherheit auf den Tod der Zellen geschlossen werden kann, die Kerne meist von den Chloroplasten verdeckt sind, so war das sicherste und deutlichste Mittel, lebende Zellen von toten zu unterscheiden, die Plasmolyse¹⁾. Als Plasmolytikum diente eine Lösung von 0.5 Mol KCl. An Blättern, die nur kurze Zeit in der Hitze gewesen waren, hob sich der Protoplast leicht und konvex von der Membran. Waren die Blätter aber längere Zeit der hohen Temperatur ausgesetzt gewesen, erfolgte das Loslösen krampfartig. Am resistantesten waren bei allen Pflanzen die Basis und Rippe. Dann folgte der Rand und schließlich das übrige Blattfeld (Übereinstimmung mit Weber, Moder und Esterak).

¹⁾ Schneider (1925) konnte allerdings nach Einwirkung hoher Temperatur auch an toten Zellen eine „Scheinplasmolyse“ beobachten. In unseren Versuchen aber war die Plasmolyse zweifellos echt, da auch Deplasmolyse eintrat.

Die Versuche wurden in den ersten 4 Wochen nach Einlegen in die Nährlösung an- gestellt.

Normale Pflanzen

Vollständig ernährte Pflanzen ertrugen in den ersten 3 Wochen die Tem- peratur von 50° C 30' bis 1½ Stunden. In der folgenden Zeit blieb die Wider- standskraft ungefähr dieselbe. Das Absterben erfolgte vom Rand zur Rippe nach etwas abgeändertem Gradienten.

Ca-freie Pflanzen

Auch bei ihnen stieg die Widerstandsfähigkeit in den ersten 10 Tagen von 30 auf 45'. Auf dieser Höhe blieb sie ungefähr bis zum 15. Tag. Dann sank sie sehr rasch. In der 3. Woche waren die Blätter schon nach 1' tot. Die Wirkung war in den ersten Wochen von der Randzone zur Mitte, in späterer Zeit von der Spitze zur Basis hin tödlich.

N-freie Pflanzen

Die Resistenz N-freier Pflanzen war schon bei den ersten Versuchen niedriger als die normal ernährter. Sie betrug ungefähr 25' und sank ziemlich regelmäßig bis auf 15' am Ende der 3. Woche. Die Blätter starben von der Spitze zur Basis. An stark geschädigten, also turgorlosen Blättern starben erst einige Zellreihen in der Nähe der Mittelrippe und gleich nachher das ganze übrige Blattfeld.

P-freie Pflanzen

Sie waren in den ersten Wochen etwas resistenter als normal ernährte. Ende der 2. Woche betrug die Resistenzdauer ungefähr 1h10'. Dann wurde sie etwas niedriger und blieb ziemlich auf gleicher Höhe (etwa eine Stunde). Die Blätter starben unregelmäßig, manchmal vom Rand zur Mitte, manchmal von der Spitze zur Basis.

K-freie Pflanzen

An Blättern K-freier Pflanzen stieg die Resistenz in den ersten 10 Tagen von 45' auf eine Stunde. Auf dieser Höhe blieb sie während der ganzen Versuchs- dauer. Erst in der 4. Woche nahm sie ganz wenig ab. Die Blätter starben teilweise vom Rand zur Mitte, teilweise von der Spitze zur Basis.

Wir sehen also die Empfindlichkeit gegen Hitze nach der Reihe: N- > Ca- > K- > P-freie > normale Pflanzen abnehmen. Siehe Fig. 6—10.

II. Versuche mit *Vicia faba*

Außer mit *Helodea* wurden noch orientierende Versuche mit *Vicia faba* gemacht. Die Samen wurden von der Saatzuchtanstalt Hohenheim bezogen. Sie wurden 24 Stunden in destilliertem Wasser quellen gelassen. Dann wurden sie geschwemmt und in Keimchalen aus Ton, die gut mit Salzsäure und destilliertem Wasser gereinigt und mit Filterpapier aus- gelegt worden waren, zum Keimen ausgelegt. Hatten die Keimlinge eine bestimmte Größe erreicht, wurden sie in die Nährlösungen übertragen. Es wurden dazu ½ Liter-Gläser ver- wendet, die gut gereinigt und mit Paraffin ausgegossen worden waren. Als Verschuß diente zuerst Stramin oder Korkplatten, die in Paraffin ausgekocht wurden. Doch erwies sich diese Art von Verschuß als unzuweckmäßig. Schließlich wurden alte Röntgenfilme als Verschuß genommen. Sie wurden gut gereinigt, im Wasserbad erwärmt und konnten dann leicht

nach Form und Größe der Gläser zugebogen werden. Sie bildeten einen gut sitzenden Verschuß und konnten wegen ihrer Elastizität leicht von den Gläsern genommen und auf andere übertragen werden.

Wurden die Keimlinge gleich in die Nährlösung übertragen, so zeigte sich, daß die Pflanzen, die in Ca-freier Lösung kamen, schon nach 1—2 Tagen eingingen. Um dem abzuhelfen, wurden gleich entwickelte Keimlinge nicht sofort in die Nährlösung, sondern zuerst in gewöhnliches Leitungswasser gebracht. In diesem wurden sie bis zur Entfaltung der ersten Blätter gelassen. So konnten die Pflanzen auch ein zweites Mal sortiert werden und nur wirklich gleichwertige weitergezogen werden. So behandelte Pflanzen blieben auch in Ca-freier Nährlösung ziemlich lange am Leben.

Pflanzen aus vollständiger Nährlösung entwickelten sich normal; sie hatten eine saftige grüne Farbe, die Wurzeln waren kräftig, reich verzweigt und schön weiß.

Ca-freie Pflanzen wurden bald schlaff und verloren ihre saftige Farbe. Die Wurzeln waren dünn, bekamen braune Flecken und verschleimten.

Auch N-freie Pflanzen verloren bald ihre saftige Farbe. Sie wurden blaß, gelblich. Die Wurzeln waren sehr lang, sehr zart und reichlich verzweigt. Ihre Farbe hatte einen Stich ins Graue.

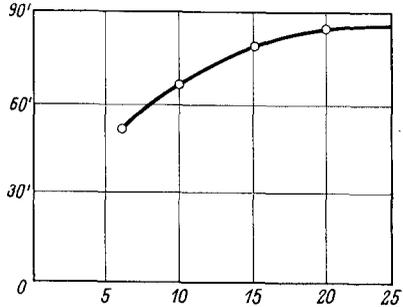


Fig. 6. Resistenz normaler Pflanzen.

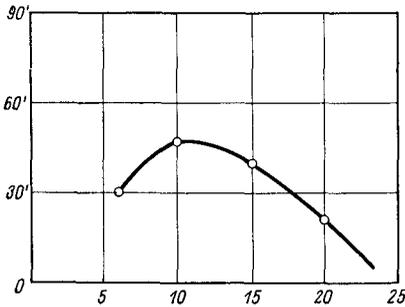


Fig. 7. Resistenz Ca-freier Pflanzen

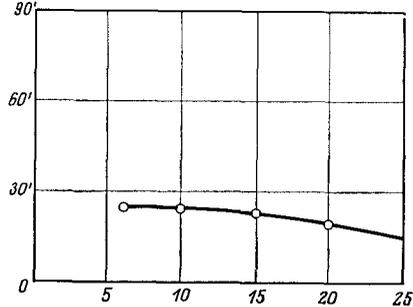


Fig. 8. Resistenz N-freier Pflanzen.

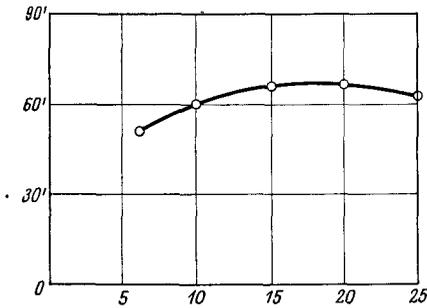


Fig. 9. Resistenz P-freier Pflanzen.

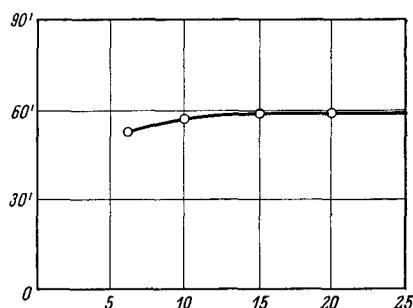


Fig. 10. Resistenz K-freier Pflanzen.

Hitzeresistenz. Auf der Ordinate ist die Resistenzdauer in Stunden, auf der Abszisse die Dauer der vorhergehenden Kultur in Tagen aufgetragen.

P-freie Pflanzen hatten eine saftige grüne Farbe, die Blätter waren ziemlich derb, die Wurzeln dünn.

Pflanzen aus K-freier Lösung waren den normalen ziemlich ähnlich. Die Blätter waren aber etwas schlaffer als die normaler Pflanzen. Die Wurzeln waren lang, dick und schön weiß.

Die Wurzelhaube normaler und Ca-freier Pflanzen hatten meist wenig Stärke, N-freie etwas mehr. Am meisten Stärke war in der P-freien Pflanze.

Plasmolyseverhalten

Das Plasmolyseverhalten der gesunden und der nährsalzmangelkranken Pflanzen wurde in erster Linie an den Epidermiszellen der Blattunterseite untersucht; besonders wurde dabei auch auf den Öffnungszustand der Stomata geachtet. Um den Wundeinfluß auszuschließen wurden nicht Schnitte plasmolysiert, sondern die ganzen Blätter mit dem Plasmolytikum infiltriert.

a) Plasmolyse in 1 Mol KCl

Normale Pflanzen

Die Epidermiszellen sind sofort stark konkav plasmolysiert. Der Protoplast bleibt mit unzähligen Fäden der Membran verbunden. Erst nach langer Zeit werden diese Fäden eingezogen. In 3—5 Stunden ist der Protoplast abgekugelt. Einzelne Fäden bleiben. Keine Deplasmolyse. Die Zellen bleiben 1—2 Tage schön plasmolysiert und gehen dann zugrunde.

Die Schließzellen werden durch 1 Mol KCl nur ganz schwach plasmolysiert. Die Plasmolyse ist glatt und manchmal schwach konkav. Sie geht nach ungefähr einer Stunde zurück. Die Spalten öffnen sich dann und bleiben offen.

Zuerst starben am Blatt die Parenchymzellen, die über den „Rippen“ gelegen sind; sie wurden ganz schwarz. Dann folgten die Epidermiszellen über den Rippen, dann die übrigen Epidermiszellen und schließlich die Schließzellen.

Ca-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist sofort konvex. Sie tritt zuerst in den Zellen über den Rippen ein; auch in den Schließzellen ist sofort Plasmolyse zu beobachten, doch geht sie hier bald wieder zurück. Die Spalten bleiben geschlossen.

K-freie Pflanzen

Die Epidermiszellen sind sofort schwach plasmolysiert. Die Plasmolyse ist konkav mit einzelnen Fäden. Erst nach 30—60' wird der Protoplast konvex. Keine Deplasmolyse.

Auch die Schließzellen werden etwas konkav und nicht sehr stark plasmolysiert. Die Plasmolyse geht bald zurück. Die Schließzellen öffnen sich dann ein wenig, schließen sich aber wieder und bleiben geschlossen. Wenn die übrigen Epidermiszellen noch schön plasmolysiert sind, sind die Schließzellen bereits tot.

b) Plasmolyse in 1 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Die Epidermiszellen werden schwach konkav plasmolysiert. Der Protoplast rundet sich aber bald ab. Hechtsche Fäden werden bald eingezogen. Die Deplasmolyse beginnt nach 3 Stunden.

Die Schließzellen werden durch 1 Mol Harnstoff nicht plasmolysiert. Waren sie geschlossen, öffnen sie sich und bleiben weit offen.

Ca-freie Pflanzen

Stammen die Blätter von Pflanzen, die erst kurze Zeit in der Nährlösung waren, so ist die Plasmolyse schwach konkav mit vereinzelt Fäden. Bei Pflanzen, die etwas länger in der Lösung waren, aber noch ganz frisch aussehen, hebt sich der Protoplast gleich konvex und ohne Fäden von der Membran. Auch die Zeit bis zum Eintritt der Deplasmolyse ändert sich je nach der Zeit, die die Pflanzen in der Nährlösung waren. Die Deplasmolyse ist anfangs nach 12 Stunden, später schon nach 2 Stunden beendet.

Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert. An Pflanzen, die erst kurze Zeit in der Nährlösung waren, öffnen sich die Spalten und bleiben offen. Bei stärker geschädigten Pflanzen schließen sie sich jedoch wieder.

K-freie Pflanzen

Die Epidermiszellen sind sofort konvex plasmolysiert. Keine Deplasmolyse. Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert und bleiben geschlossen.

c) Plasmolyse mit 1,5 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Die Plasmolyseform ist stark verkrampft mit vielen Hechtschen Fäden. Erst nach etwa 35' rundet sich der Protoplast ab. Deplasmolyse.

Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert. Die Spalten öffnen sich und bleiben weit offen.

Ca-freie Pflanzen

An Pflanzen, die erst etwas über eine Woche in der Nährlösung waren, ist die Plasmolyse in den Epidermiszellen etwas konkav mit wenigen Fäden. Später jedoch hebt sich der Protoplast sofort konvex und ohne Fäden zu bilden von der Membran. Die Deplasmolysezeit schwankt zwischen 5—2 Stunden.

Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert. Die Spalten bleiben geschlossen.

Bei P- und N-freien Pflanzen ist die Plasmolyseform stark konkav mit vielen Fäden und wird erst nach ungefähr 1 Stunde konvex. K-freie Pflanzen haben eine schwach konkave Plasmolyseform, die nach etwa 45' konvex wird.

d) Plasmolyse in 2,0 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Der Protoplast der Epidermiszellen sieht ganz zerrissen aus. Durch zahllose verästelte Fäden bleibt er mit der Membran verbunden. Erst nach etwa 5 Stunden rundet er sich ab. Meist bildet sich ganz schwache Kappenplasmolyse. Keine Deplasmolyse.

Die Schließzellen werden ganz schwach plasmolysiert, doch geht die Plasmolyse bald zurück. Die Spalten öffnen sich und bleiben weit offen.

Ca-freie Pflanzen

In den ersten 2 Wochen nach Einlegen in die Nährlösung ist die Plasmolyse der Epidermiszellen etwas verkrampft und fädig; später ist sie gleich konvex. Deplasmolyse nach 24 Stunden.

Die Schließzellen werden gar nicht oder ganz schwach plasmolysiert. In letzterem Falle geht die Plasmolyse gleich wieder zurück. Die Spalten öffnen sich etwas, schließen sich aber wieder und bleiben geschlossen.

III. Versuche mit *Tradescantia*

Auch mit *Tradescantia fluminensis* wurden einige Versuchsreihen angestellt. Dazu wurden möglichst gleichwertige Sprosse von bestimmter Länge und Blattzahl von der Mutterpflanze gelöst und bis zu ihrer Wurzelbildung mit der Basis in destilliertes Wasser eingestellt. Dann wurden Sprosse gesondert und die gleichwertigen in die Nährlösung übertragen. Die Lösungen waren dieselben wie bei den Versuchen mit *Vicia faba*, die Gefäße etwas kleiner. Die Versuchsdauer betrug 2 Monate. Über das Verhalten bei längerer Kultur in den Mangelösungen kann daher nichts ausgesagt werden.

Die Pflanzen entwickelten sich anfangs ziemlich gleichmäßig. Auch Ca-freie unterschieden sich nicht von den normalen. Die Blätter waren ziemlich dünn und seidig glänzend, die Wurzeln sehr stark behaart und reichlich verzweigt.

Bei Ca-freien Pflanzen hatten die neugebildeten Blätter nicht mehr die saftige grüne Farbe; sie wurden etwas heller. Mit der Zeit verloren sie auch ihren Glanz. Sie bekamen braune Flecken und sahen aus, als ob sie verdorrt wären. Die Blätter blieben ziemlich zart, die Verzweigung der oberirdischen Teile war nicht reichlich. Mit der Zeit stellten die Pflanzen ihr Wachstum ein. Das Wurzelsystem war schwach entwickelt. Die Wurzeln hatten nur wenige und kurze Haare, die oft unter der Spitze eingeschnürt waren. Die Wurzeln selbst blieben klein, kaum verzweigt und wurden bräunlich. Ebenso wurde die Wurzelspitze bald braun und verschleimt. Die Wurzelhaube speicherte keine oder nur wenig Stärke.

N-freie Pflanzen wurden bald fahl und verloren ihren Glanz. Sie bekamen helle Flecken und wurden schließlich ganz blaßgelbgrün. Sie waren ziemlich derb. Die Verzweigung war nicht besonders reichlich. Die Wurzeln waren sehr lang, dünn und sehr stark behaart. Auch die Wurzelhaare waren sehr lang. Die Wurzelhaube enthielt reichlich Stärke. In den äußeren Zellreihen wurde sie mit Jodchloralhydrat blau, in den inneren rot.

In P-freier Nährlösung entwickelten sich die Pflanzen während der Versuchsdauer sehr gut. Die Blätter bekamen eine dunkelgrüne Farbe, waren matt und hatten ein derbes Aussehen. Messungen am Querschnitt zeigten, daß sie viel dicker als normale Blätter waren. Besonders stark war bei ihnen die obere Epidermis entwickelt; das Assimilationsgewebe war etwas schwächer entwickelt als bei normalen Pflanzen. Die Wurzeln waren ziemlich normal, sie waren lang und stark behaart. Nur ihre Farbe war nicht rein weiß, sondern etwas bräunlich. Die Wurzelhaube enthielt viel Stärke.

K-freie Pflanzen waren in ihrem Aussehen kaum von normalen zu unterscheiden. Ihre Farbe war saftiggrün, die Verzweigung allerdings etwas weniger reich. Das Aussehen der Wurzeln war wie bei normalen.

Im folgenden wird das Plasmolyseverhalten der Epidermiszellen der Blätter beschrieben. Die Plasmolyse wird nicht an Schnitten durchgeführt — um den Wundeeinfluß auszuschließen — sondern an ganzen mit dem Plasmolytikum infiltrierten Blättern.

Plasmolyse mit 1,0 Mol KCl

Normale Pflanzen

Die Plasmolyse beginnt stark konkav, aber glatt, d. i. ohne Hechtsche Fäden. Erst nach Stunden rundet sich der Protoplast ab. Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert; die Spalten öffnen sich und bleiben weit offen. Die Schließzellen bleiben lange gesund und frisch (bis zu 7 Tagen). Keine Deplasmolyse. Die Nebenzellen sind ebenfalls konkav plasmolysiert. Ihr Protoplast sieht sehr beschädigt aus und rundet sich nicht ab.

Ca-freie Pflanzen

Die Epidermiszellen sind konkav plasmolysiert mit vielen „Käselöchern“. Erst spät kugelt sich der Protoplast ab. Im Zellsaft sind viele dunkle Anthocyantröpfchen. Die Spalten öffnen sich und gehen weit auseinander. Nach einigen Tagen schließen sie sich aber wieder. Die Epidermiszellen sind nach einigen Tagen tot, die Schließzellen bleiben viel länger am Leben.

N-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist konkav. Das Plasma erscheint schaumig. Im Zellsaft sind viele dunkle Anthocyantröpfchen. Die Spalten öffnen sich nicht; waren sie offen, so schließen sie sich wieder. Keine Deplasmolyse. Die Schließzellen bleiben am längsten am Leben.

P-freie Pflanzen

Die Plasmolyse ist konkav, aber ohne Fäden. Erst nach ungefähr 9 Stunden wird sie rund. Die Spalten bleiben geschlossen oder schließen sich. Die Schließzellen leben länger als die übrigen Epidermiszellen.

Plasmolyse in 2,0 Mol KCl

Normale Pflanzen

Die Schließzellen sind krampfartig plasmolysiert. Die Protoplaste der Epidermiszellen sind ganz zerrissen, runden sich aber bald ab. Nach 17 Stunden ist der Zellsaft durch Plasmalamellen durchsetzt.

N-freie Pflanzen

Epidermis- und Schließzellen sind konkav plasmolysiert. Im Anthocyan sind viele dunkle Tröpfchen. Nach 17 Stunden sind die Nebenzellen und die Epidermiszellen über den Nerven tot, Schließzellen noch sehr schön.

P-freie Pflanzen

Schließ- und Epidermiszellen sind sofort konkav plasmolysiert. Das Plasma ist stark schaumig. Die Epidermiszellen über den Nerven sterben zuerst, zuletzt die Schließzellen.

Plasmolyse in 1,0 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Der Protoplast löst sich unter Bildung zahlreicher Hechtscher Fäden von der Membran. Nach ungefähr 45' werden diese Fäden eingezogen; der Protoplast wird konvex. Die Schließzellen sind offen oder öffnen sich. Sie werden nicht plasmolysiert. Nach etwa einem Tag ist das Blatt deplasmolysiert. Die Spalten bleiben offen.

Ca-freie Pflanzen

Ca-frei gezogene Pflanzen, die noch nicht lange in der Nährlösung waren und auch ein vollkommen normales Aussehen haben, sind in ihrem Verhalten den normalen Blättern sehr ähnlich. Nur tritt bei ihnen schon nach etwa 6 Stunden Deplasmolyse ein. Die Spalten bleiben bei ihnen offen.

Nach längerem Aufenthalt in der Ca-freien Lösung sind sie sofort konvex plasmolysiert, nach $1\frac{1}{2}$ Stunden ist die Plasmolyse zurückgegangen. Die Spalten öffnen sich etwas, schließen sich aber bald und bleiben geschlossen.

K-freie Pflanzen

Viele Hechtsche Fäden, die aber bald eingezogen werden. Die Schließzellen werden nicht plasmolysiert, die Spalten geschlossen. Deplasmolyse nach einem Tag.

Plasmolyse in 1,5 Mol Harnstoff

Normale Pflanzen

Stark konkave Plasmolyse der Epidermis — weniger stark konkave der Schließzellen. Plasmolysezeit etwa 45'. Die Spalten öffnen sich und bleiben weit offen.

Ca-freie Pflanzen

Konkave Plasmolyse an gesunden, konvexe an geschädigten Blättern. Die Spalten schließen sich wieder. Die Plasmolyse geht tagelang nicht zurück.

Diskussion

Ein Überblick über die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigt einerseits, daß die Vermutung, die Nährsalz-Mangel-Krankheiten der Pflanzen müßten durch protoplasmatische Symptome zu kennzeichnen sein, wohl richtig ist; andererseits aber gestatten die aufgefundenen Symptome in ihrer Unvollständigkeit noch keinen Einblick in das Wesen der Erkrankung. Bei der Neuheit der Fragestellung, die ja in der Einleitung ausdrücklich betont wurde, waren allerdings weiterreichende Ergebnisse und Schlüsse kaum zu erwarten. Die Diskussion kann und muß sich daher auf die Erörterung einzelner Ergebnisse beschränken, da die ursächliche Verknüpfung der einzelnen Symptome und die Einschätzung ihrer Bedeutung für den Krankheitsverlauf noch gar nicht möglich ist. Auf die Besprechung der makroskopisch sichtbaren Mangelerscheinungen soll hier überhaupt nicht eingegangen werden, da diese nicht in den Rahmen der eigentlichen Untersuchungen fallen und nur der Vollständigkeit halber Erwähnung gefunden haben.

Aus den Versuchen mit *Helodea* sei zunächst der gewissermaßen negative Befund hervorgehoben, daß der osmotische Wert der Blattzellen bei den mangelkranken Pflanzen keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den normal ernährten aufweist. Dieses Ergebnis muß als überraschend bezeichnet werden, hätte man doch eher vermutet, daß bei dem wohl wesentlich gestörten Stoffwechsel eine Änderung des osmotischen Wertes sich einstellt. Eine Erhöhung des osmotischen Wertes kalimangelkranker Pflanzen hat z. B. Lowig (1935) vermutet. Ohne natürlich die Ergebnisse an *Helodea* auf die an Gramineen und an Klee übertragen zu wollen, müßte man doch fordern, daß die Vermutung von Lowig messend geprüft wird, bevor weitere Schlüsse gezogen werden.

Für *Helodea* kann also gesagt werden, daß im mangelkranken Zustand (mit Ausnahme vielleicht bei Ca-Mangel) an der Höhe des osmotischen Wertes festgehalten wird. Es kommt eine Änderung des osmotischen Wertes also nicht als Krankheitsursache in Betracht. Während demnach der Zellsaft, insofern er eine echte, osmotisch wirksame Lösung darstellt, bei der Mangelkrankung keine Änderung erfährt, so scheint der Kolloidgehalt des Zellsaftes bei den mangelkranken Pflanzen ein anderer zu sein als bei den gesunden. Dies läßt sich aus dem Verhalten bei der Vitalfärbung erschließen. Speziell die Art der gefärbten Niederschläge, die in der Vakuole auftreten, scheint ja nach manchen Erfahrungen vom Kolloidgehalt des Zellsaftes abhängig zu sein. Wenn wir auf diese Weise durch die Vitalfärbung Änderungen des Zellsaftes als Sol ermittelt haben, so fehlt doch noch die tiefere Einsicht in das Wesen dieser Veränderungen.

Mehr als die Vorgänge im Zellsaft interessieren aber naturgemäß die Zustandsänderungen des Cytoplasmas selbst.

Einige Aufschlüsse darüber lassen sich aus der Veränderung der Plasmolyseform und -zeit gewinnen. Während man vielfach den Einfluß von Salzen (Ionen) in der Weise studiert hat, daß die Zellen in verschiedenen Salzplasmolyticiis untersucht wurden, hat Weber (1924) zuerst auch den Einfluß der Vorbehandlung mit Salzen verfolgt. Solche Versuche wurden in letzter Zeit von Cholodny und Sankewitsch (1933) mit genauerer Methodik wieder aufgenommen. Dabei ergab sich, daß der Effekt — nämlich die verschiedene Wirkung von mono- und bivalenten Kationen auf die Plasmolyseform — sich schon einstellt, wenn die Zellen mit recht verdünnten Salzlösungen vorbehandelt werden. Zu diesen Ergebnissen bestehen nun gewisse Beziehungen bei den hier beschriebenen Versuchen. Prinzipiell neu sind unsere Versuche allerdings in der Hinsicht, daß die Vorbehandlung nicht in der Weise geschah, daß die Zellen in die betreffenden Salzlösungen eingelegt wurden; es wurden vielmehr die Salze in den Nährlösungen gewissermaßen auf dem natürlichen Wege dargeboten. Auch handelt es sich hier nicht um die Wirkung von Einzelsalzlösungen, sondern darum, daß eine Wirkung von Salzkombinationen vorliegt. Bei den Mangelösungen fehlen dann einzelne Ionen und es ist somit hier erstmalig der Einfluß solcher Mangellösungen auf das Cytoplasma untersucht, insofern sich diese Wirkung an der Plasmolyseform erkennen läßt.

Es zeigte sich, daß tatsächlich bei mangelkranken Pflanzen die Plasmolyseform gegenüber der Norm abgeändert ist. Nach den bisherigen Erfahrungen wird bei Vorbehandlung in K-Salzlösungen die Plasmolyse erleichtert, was in der konvexen Plasmolyseform und in der Abkürzung der Plasmolysezeit zum Ausdruck kommt. Andererseits erschwert die Vorbehandlung mit Ca-Salzen die Plasmolyse und bedingt demnach konkave bzw. Krampfplasmolyse sowie Verlängerung der Plasmolysezeit. Bei unseren Versuchen war demnach zu erwarten, daß in der K-freien Nährlösung, in der die „verflüssigende“ Wirkung des K-Ions zum Wegfall kommt, die Plasmolyseform krampfartig wird und die Plasmolysezeit verlängert ist, in der Ca-freien Lösung dagegen, bei der das verfestigende Ca-Ion fehlt, die Plasmolyseform mehr konvex, die Plasmolysezeit kürzer wird. Dies ist nun sowohl bei den Versuchen mit *Helodea* als auch bei den Versuchen mit *Vicia faba* und *Tradescantia* der Fall. Der Protoplast Ca-freier Pflanzen wird stets sofort konvex, die Plasmolysezeit ist also gleich null. Dagegen zeigen K-freie Pflanzen immer verkrampfte Plasmolyseform; oft sieht der Protoplast ganz zerrissen aus. Es beträgt z. B. an *Helodea*-Zellen aus K-freier Nährlösung bei Plasmolyse mit 1,0 Mol KCl die Plasmolysezeit 30—45', in gleichwertigen Blättern aus Ca-freier Lösung ist sie gleich null. Wir können demnach sagen, daß in K-Mangelpflanzen der Zustand des Protoplasmas in dem Sinne verändert ist, als ob die Pflanzen mit einer Einzelsalzlösung von Ca behandelt würden, bei Ca-Mangelpflanzen dagegen so, als ob sie mit einer Einzelsalzlösung von Kalium behandelt wären.

Von einer Diskussion der mangelbedingten Resistenzunterschiede soll abgesehen werden, weil wir heute über das Wesen der Alkoholresistenz, der Resistenz gegen Hitze und anderer Empfindlichkeiten noch ganz im Unklaren sind.

Zusammenfassung

Sprosse von *Helodea canadensis* und *Tradescantia fluminensis*, sowie Keimpflanzen von *Vicia faba* wurden in Mangellösungen kultiviert. Es wurde untersucht, ob die dabei zu erwartenden pathologischen Zellzustände durch die Methoden der protoplasmatischen Pflanzenanatomie und der vergleichenden Protoplasmatik charakterisiert werden können.

I. Versuche mit *Helodea*

1. Makroskopische Mangelerscheinungen

Wachstumsstillstand von N-, Ca- und P-frei gezogenen Pflanzen in der 3.—4. Woche, gesteigertes Streckenwachstum K-freier Pflanzen. Turgorverlust Ca- und N-freier Pflanzen. Derbes Aussehen P-freier, zartes Aussehen K-freier Pflanzen. Keine Bildung von Achselknospen an Pflanzen aus Ca- und P-freier Lösung.

2. Mikroskopisch sichtbare Mangelerscheinungen

a) Kleinerwerden der Chloroplasten Ca- und N-freier Pflanzen, verblassen des grünen Pigments, Gelbwerden, starke Protoplasmaströmung nach längerem Verbleiben in der Nährlösung. Anfängliches Größer-, dann Kleinerwerden, bräunliche Farbe, peristrophe Lage der Chloroplasten, verdickte Membranen und Membraneinlagerungen an P-freien Pflanzen. Sehr große, epistrophe gelagerte Chloroplasten K-freier Pflanzen.

b) Ganz geringer Stärkegehalt N-, Ca-, P-freier, etwas größerer Gehalt K-freier Pflanzen. Manchmal reichliche Stärkemengen in einzelnen Zellen Ca-freier Pflanzen. Die Rippe ist an allen Blättern frei von Stärke.

c) Keine wesentlichen Unterschiede im osmotischen Wert. Nur an Ca-freien Pflanzen ist er bis zu 0,1 Mol höher als an normal ernährten.

d) Bei Vitalfärbung der Blätter überwiegen der Farben blutrot-violett an normal ernährten, rosa-blaßrotbraun an Ca-freien, rosa-gelb-violett an N-freien, rosa-grün-braungelb an P-freien und gelb-grün-violett an K-freien. Verästelte Formen des Farbstoffniederschlags an Ca- und N-freien, Vakuolenkontraktion an Ca-freien Pflanzen.

3. Plasmolyseverhalten

a) Plasmolyse mit KCl

Stark verkrampfte Plasmolyseform an vollkommen und K-frei ernährten, schwach konkaveckige an P-freien, konvexe an N- und Ca-freien Pflanzen. Plasmolysezeit: Ca-, N- < P- < K-freie < vollkommen ernährte Pflanzen. Lebensdauer der Blätter im Plasmolytikum in den beiden ersten Wochen:

Normale Pfl. < P- < K- < N- < Ca-freie Pflanzen.

Später: Ca- < P- < N- < K-freie < normale Pflanzen. Systrophenbildung bei Plasmolyse mit 0,5 KCl an Ca- und N-freien, selten und dann nicht am ganzen Blatt an P- und K-freien Pflanzen. Der Plasmolysegradient verläuft an vollkommen und K-frei ernährten Pflanzen von der Blattbasis zur Spitze, an allen übrigen Pflanzen etwas abgeändert vom Rand zur Mitte.

b) Plasmolyse mit Harnstoff

Keine Unterschiede in der Plasmolyseform und in Plasmolysegrad zwischen vollkommen und mangelhaft ernährten Pflanzen. Die Plasmolysezeit und ebenso die Zeit, die die Blätter im Plasmolytikum am Leben bleiben, steigt nach der Reihe: Ca- < N- < P- < K-freie < normale Pflanzen. An stärker geschädigten Pflanzen ist die Plasmolysezeit geringer als an weniger geschädigten. Der Plasmolysegradient verläuft an Blättern von Pflanzen aus vollständiger Nährlösung von der Basis zur Spitze, bei Mangelpflanzen vom Rand zur Mitte.

c) Plasmolyse mit CaCl_2

Mit 0,5 Mol CaCl_2 wird in den ersten Tagen der Mangelkultur nur Grenzplasmolyse, später aber ein stärkerer Grad erreicht. Die Plasmolysezeit nimmt zu nach der Reihe: Ca-, N-, P-, K-freie vollkommen ernährte Pflanzen. Systrophenbildung an allen Mangelpflanzen früher als an normal ernährten. Bei Plasmolyse mit 1,0 Mol CaCl_2 konkave Plasmolyseform bei vollkommen und K-frei ernährten, eckige an P-freien und konvexe an Ca- und N-freien Pflanzen.

4. Empfindlichkeit

a) Gegen Alkohol

Die Empfindlichkeit nimmt ab in der Reihenfolge: K-freie > vollkommen > Ca- > P- > N-frei ernährte Pflanzen. Dabei kommt es zu Ballungen der Chloroplasten bei vollkommen und K-frei ernährten Pflanzen. Der Gradient verläuft an normalen und weniger geschädigten Pflanzen vom Blattrand zur Mitte, an stärker geschädigten von der Spitze zur Basis.

b) Gegen Säure

Die Empfindlichkeit nimmt ab nach der Reihe: N- > Ca- > K- > P-frei > vollkommen ernährte Pflanzen. Der Gradient verläuft an Blättern vollkommen und K-frei ernährter Pflanzen von der Spitze zur Basis, an allen übrigen vom Rand zur Rippe.

c) Gegen Hitze

Die Empfindlichkeit nimmt ab nach der Reihe: N- > Ca- > K- > P-frei > vollkommen ernährte Pflanzen. Der Gradient verläuft ganz unregelmäßig, entweder von der Spitze zur Basis oder vom Rand zur Mitte.

II. Versuche mit *Vicia faba*

Verblässen des Chlorophylls bei Ca- und N-freien Pflanzen. Dünne Wurzeln Ca-, N- und P-freier Pflanzen.

Bei Plasmolyse mit KCl (1 Mol) und mit Harnstoff (1,0, 1,5 und 2,0 Mol) verkrampfte Plasmolyseform normaler Pflanzen. An Ca-freien Pflanzen ist sie schwach konkav nach kurzem, konvex nach längerem Verbleiben in der Nährlösung. Tagelang keine Deplasmolyse in 1,0 Mol KCl. In Harnstoff schnellere Deplasmolyse Ca-freier Pflanzen. Offene Stomata an normalen, geschlossene an Ca-freien Pflanzen bei Behandlung mit KCl und Harnstoff.

III. Versuche mit *Tradescantia*

Blaßwerden der Blätter Ca- und N-freier Pflanzen. Verkümmertes Wurzelsystem, wenige Wurzelhaare und ganz geringer Stärkegehalt der Wurzelhaube Ca-freier Pflanzen. Besonders gute Entwicklung der oberen Epidermis P-freier Pflanzen.

Bei Plasmolyse mit KCl (1,0 und 2,0 Mol) und mit Harnstoff (1,0 und 1,5 Mol) stark verkrampfte Plasmolyseform normaler, konvexe Ca-freier und konkave aller übrigen Mangelpflanzen. An allen Pflanzen auch nach Tagen keine Deplasmolyse. Die Stomata normaler Pflanzen bleiben stets offen oder öffnen sich, an Mangelpflanzen bleiben sie geschlossen oder sie schließen sich.

Literatur

- Bělehrádek et Melichar, 1930. L'action differentes des temperatures normales sur la survie de la cellule végétale. *Biologia generalis* 6.
 —, 1935. Temperature and living matter. *Protoplasma-Monographien* 8. Berlin, Borntraeger.

- Bersa, 1932. Ein neuer Destillationsapparat für biologisch reines Wasser. *Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie* **49**.
- Cholodny u. Sankewitsch, 1933. Plasmolyseform und Ionenwirkung. *Protoplasma* **20**.
- Collins, 1931. Giftresistenz verschieden alter *Helodea*-Blätter. *Protoplasma* **12**.
- Czapek, 1913. *Biochemie der Pflanze*. 2. Aufl. Jena.
- Day, 1929. Some effects of calcium deficiency on *Pisum sativum*. *Plant Physiology* **4**.
- Derry, 1929. Plasmolyseform- und Plasmolysezeit. *Protoplasma* **8**.
- Döring. Zur Mechanik des Hitzetodes. *Planta* **17**.
- Beiträge zur Frage der Hitzeresistenz. *Planta* **18**.
- Ender, 1912. Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. *Biochem. Zeitschr.* **42**.
- Fitting, 1934. Ionenwirkung. *Deutsche Forschung* **32**.
- Fuchs, 1935. Die Abhängigkeit der Zustandsindikatoren von der Salznahrung. Untersucht an Weizenpflanzen. *Planta* **24**.
- Gahlen, 1934. Beiträge zur Physiologie der Blattzellen von *Helodea canadensis*. *Protoplasma* **22**.
- Gassner, 1932. Über den Einfluß der Kaliumnahrung auf die Assimilation. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Festschr.* **50 a**.
- , 1934. Der Stickstoffhaushalt in seiner Abhängigkeit von der Ernährung. *Phytopatholog. Zeitschr.* **7**.
- Gellhorn, 1929. *Das Permeabilitätsproblem*. Berlin.
- Germ, 1931. Über Plasmasystrophe. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* **49**.
- , 1932. Untersuchungen über systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse. *Protoplasma* **14**.
- Gicklhorn, 1926. Über die Entstehung und Formen lokalisierter Manganspeicherung bei Wasserpflanzen. *Protoplasma* **1**.
- Görbing, 1932. Der Einfluß des Kalium auf die Wurzelentwicklung der Sommergerste. *Ernährung der Pflanze* **28**.
- Hansteen-Cranner, 1910. Über das Verhalten der Pflanze zu den Bodensalzen. I. u. II. *Jahrb. f. wiss. Bot.* **47**.
- Hansteen, 1919. Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* **37**.
- Hoagland, 1932. *Mineral Nutrition of Plants*. Annual Review of Biochemistry **1**.
- Höber, 1920. Zur Analyse der Calciumwirkung. *Pflügers Arch.* **182**.
- Höfler, 1932. Vergleichende Protoplasmatik. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* **50**.
- Honcamp, 1933. Die Bedeutung des Kalium für den pflanzlichen und tierischen Organismus. *Ernährung der Pflanze* **29**.
- Illert, 1924. Botanische Untersuchungen über Hitzetod und Stoffwechselgifte. *Bot. Arch.* **7**.
- Jakoljevic, 1929. Influence de la Calcium sur la croissance et la coloration de *Anchusa italica*. *Bull. Inst. Bot. Univ. Belgrade* **1**.
- Kaho, 1921. Neutralsolade möjust ultramaksimum temperaturai peule *Tradescantia*. *Acta et Comm. Univ. Dorpatensis A II*, **4**.
- , 1926. Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze. *Ergeb. d. Biol.* **1**.
- , 1935. Zur Physiologie der Kartoffel. I u. II. *Phytopathologische Zeitschr.* **8**.
- Kisser, 1927. Untersuchungen über den Einfluß der Nährsalze auf die Wasserauf- und -abgabe, relative Sproß- und Wurzelmasse und die Blattstruktur. I u. II. *Planta* **3**.
- Krassinsky, 1930. Über jahreszeitliche Änderungen der Permeabilität des Protoplasmas. *Protoplasma* **9**.
- Küster, 1929. *Pathologie der Zelle*. Protoplasma-Monographien **3**.
- Klemm, 1895. Desorganisationserscheinungen der Zelle. *Jahrb. wiss. Bot.* **28**.

- Lepeschkin, 1912. Zur Kenntnis der Einwirkung supramaximaler Temperaturen auf die Pflanze. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **30**.
- , 1924. Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin, Springer.
- , 1927. Über den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas. Protoplasma **2**.
- Lochwing, 1928. Calcium, Potassium and Ironbalance in certain cropplants in relation to their metabolism. Plant Physiology **3**.
- Loew, 1892. Über die physiologische Funktion der Calcium- und Magnesiumsalze im pflanzlichen Organismus. Flora **307**.
- Lowig, 1935. Über den Einfluß der Kalisalze, insbesondere ihrer Anionen sowie der Kieselsäure und des Stickstoffs auf die Mehlauresistenz. Landwirtschaftliche Jahrbücher **81**, 2.
- Meindl, 1934. Weitere Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **21**.
- Mevius, 1927. Calciumion und Wurzelwachstum. Jahrb. f. wiss. Bot. **6**.
- Moder, 1932. Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **16**.
- Molisch, 1913. Mikrochemie der Pflanze. Jena.
- Nightingale, 1930. New Jersey Agricult. Exper. Stat. Bull. Nr. **499**.
- Pirschle, 1933—35. Mineralstoffwechsel. Fortschritte der Bot. **2—4**. Berlin.
- Santaella, 1935. Beiträge zur Kenntnis des physiologischen Zustandes der Weizenkeimpflanzen. Kühnarchiv **39**.
- Seifriz, 1923. Observations on the reaction of protoplasm to some reagents. Annals of Botany **37**, Nr. 547.
- Schimper, 1890. Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora **73**.
- Schneider, 1925. Plasmolyse als Kennzeichen lebender Protoplaste. Zeitschr. f. wiss. Mikr. **42**.
- Sorokin and Sommer, 1929. Changes in the cells and tissues of roottips induced by the absence of calcium. Amer. Journ. Bot. **16**.
- Sapper, 1935. Versuche zur Hitzeresistenz der Pflanzen. Planta **23**.
- Vries, de, 1871. Sur la mort des cellules végétales par l'effet d'une température élevée. Opera collata **1**.
- Virtoner. Der Einfluß des pH in der Nährlösung. Planta **15**.
- Warthiadi, 1911. Veränderungen der Pflanze unter dem Einfluß von Kalk und Magnesia. Dissertation München.
- Weber, F., 1925. Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Österr. Bot. Zeitschrift **74**.
- , 1925. Über die Beurteilung der Plasmaviskosität nach der Plasmolyseform. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie **42**.
- , 1929. Plasmolysezeitmethode. Protoplasma **5**.
- , 1929. Protoplasmatische Anatomie. Protoplasma **8**.
- , 1930. Permeabilität der Stomatazellen. Protoplasma **10**.
- , 1930. Vakuolenkontraktion vitalgefärbter *Helodea*-Zellen. Protoplasma **9**.
- , 1924. Plasmolyseform und Protoplasmaviskosität. Österr. bot. Zeitschr. **73**.
- , 1931. Harnstoffpermeabilität ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. Protoplasma **12**.
- , 1932. Unterschiede in der Säureresistenz der *Helodea*-Blattzellen. Protoplasma **16**.
- , 1932. Protoplasmatische Ungleichheit morphologisch gleicher Zellen. Protoplasma **15**.