

Copyright ©

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

Eine mikrokryoskopische Methode zur Bestimmung des Turgors von Meeresalgen¹⁾

VON HANSWERNER KESSELER

¹⁾ Gekürzter Teil einer Dissertation, die auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. C. HOFFMANNs, in der Botanischen Abteilung des Institutes für Meereskunde angefertigt wurde. Herrn Professor HOFFMANN möchte ich an dieser Stelle nochmals recht herzlich für seine zahlreichen Ratschläge und vielfachen Bemühungen um das Zustandekommen dieser Arbeit danken.

A. Einleitung

Osmotische Messungen an Meeresalgen mit Hilfe der üblichen plasmolytischen Methoden stoßen auf große Schwierigkeiten (vgl. KOTTE 1914, HOFFMANN 1932 a, b, MOSEBACH 1940 u. a.). Bei einigen relativ großzelligen Algenarten läßt sich jedoch genügend Saft aus einer Zelle gewinnen, um eine direkte Bestimmung seines osmotischen Potentials durch Messung der Gefrierpunktsdepression zu ermöglichen.

Hierzu bedient man sich heute fast ausschließlich mikrokryoskopischer Methoden (CAPPELLETTI 1939; MOSEBACH 1940; RAMSEY 1949; HARGITAY et al. 1951; KINNE 1952; KUHN und MAJER 1956), die auf dem von DRUCKER und SCHREINER (1913) abgewandelten Prinzip der klassischen, hauptsächlich von BECKMANN ausgearbeiteten Gefrierpunktsbestimmungsmethode beruhen. Die zu untersuchenden Proben werden dabei in entsprechend dimensionierten Kapillaren eingefroren und in ein vorgekühltes Flüssigkeitsbad übertragen. Durch langsames Erwärmen des Bades bringt man das in den Proben gebildete Eis zum Schmelzen und beobachtet mit Hilfe eines Mikroskops den Schmelzprozeß. Die nach dem Verschwinden der letzten Eisspuren an einem Spezialthermometer abgelesene Temperatur gibt die Gefrierpunktserniedrigung der untersuchten Flüssigkeit an.

Es wurde zunächst versucht, mit Hilfe der von KINNE (1952) im Institut entwickelten Apparatur zum Ziele zu gelangen. Es ergaben sich aber besonders hinsichtlich der Temperaturkontrolle bei rasch durchzuführenden, umfangreichen Serienmessungen Schwierigkeiten, die es wünschenswert machten, ein nach dem gleichen Prinzip arbeitendes, für Serienmessungen geeignetes, handliches Laboratoriumsgerät zu entwickeln.

B. Apparatur und Methodik

1. Beschreibung des Gerätes²⁾

Das hölzerne Schutzgehäuse (1) enthält die aus Kupferblech gefertigte Kühlkammer (2) mit dem gläsernen Kolben (3) für das Flüssigkeitsbad. Der Raum zwischen Gehäusewand und Kühlkammer ist mit gutem Isoliermaterial (Baumwollwatte) ausgestopft.

An Vorder- und Rückseite der Kammer ist je ein rundes Fenster von 5 cm Durchmesser ausgeschnitten, vor denen die beiden Polarisationsfilter (4) (ZEISS Bernotar 60) angebracht

²⁾ Die eingeklammerten Zahlen verweisen auf die entsprechenden Ziffern der Tafeln 6 (Abb. 1) und 7 (Abb. 2a u. 2b)

sind. Sie ermöglichen es, die Eiskristalle in polarisiertem Licht zu beobachten. Das vordere Filter kann zu diesem Zweck durch einen Hebel von außen gedreht werden. Bei gekreuzten Filtern heben sich die hell aufleuchtenden Eiskristalle sehr wirkungsvoll von dem dunkelroten Hintergrund ab. Selbst kleinste Eisspuren werden auf diese Weise der Beobachtung zugänglich, da sie infolge Beugung des Lichtes bzw. Überstrahlung des dunklen Hintergrundes größer erscheinen. Dieses Prinzip wurde zuerst von HARGITAY et al. (1951) angewandt.

Einige Stunden vor Beginn der geplanten Messung wird das Gehäuse vom Sockel des Gerätes abgenommen und zur Vorkühlung in einen Eisschrank gestellt, wo es auch während längerer Arbeitspausen seinen Platz hat. Auf diese Weise kann man Trockeneis sparen, das zur weiteren Abkühlung des Flüssigkeitsbades (4 Tl. aq. dest. + 1 Tl. Methanol) Verwendung findet. Zu diesem Zweck werden aus zwei seitlich an der Kühlkammer angebrachten gläsernen Vorratsbehältern (5) etwa erbsengroße Stücke entnommen und durch die Öffnung für den Kapillarenträger (6) im Stopfen des Kolbens (vgl. Aufriß Tafel 7 Abb. 2b in das Bad geworfen).

Für weniger umfangreiche gelegentliche Untersuchungen können die Vorratsbehälter auch mit einer Kältemischung aus 10 Tl. $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ und 7 Tl. Schnee oder fein zerstoßenem Eis gefüllt werden. Mit diesem Gemisch ist eine Temperatur von -51°C erreichbar.

Hat das Bad die erforderliche Temperatur erreicht, was nach entsprechender Vorkühlung in wenigen Minuten geschehen ist, so wird der Kapillarenträger (6) aus dem Gefriergefäß genommen und durch den Stopfen des Kolbens in das Kühlbad geführt. Als Gefriergefäß dient ein mit Diäthyläther gefülltes Reagenzglas, das in einem der Trockeneisbehälter untergebracht ist. Durch den Äther werden Fett- und Paraffinölsuren, die etwa beim Abfüllen der Proben an den Kapillaren haften geblieben sind, gelöst. Es können sich daher nach Übertragung in den Kolben keine Bläschen der zum Umrühren des Bades zugeführten Preßluft an den Kapillaren festsetzen. Außerdem verhindert die große Verdunstungskälte des Äthers auch bei sehr feinen Kapillaren ein Auftauen der Proben während der Überführung vom Gefriergefäß in den Kolben.

Der Kapillarenträger besteht aus einem Stück Glasrohr, an dessen unterem Ende ein zur Aufnahme der Kapillaren bestimmtes Rähmchen drehbar befestigt ist (vgl. Frontalriß Abb. 2a). Letzteres kann nach Einsetzen des Kapillarenträgers in den Kolben durch Betätigen eines am oberen Ende des Glasrohres angebrachten Rädchens gedreht werden. Auf diese Weise ist es möglich, die auf dem Rähmchen befindlichen Kapillaren — etwa 10 auf jeder Seite — aus ihrer ursprünglich senkrechten Stellung in horizontale Lage zu bringen. Hierdurch wird wegen der stets horizontalen Konzentrationsschichtung die Länge des Diffusionsweges, den die in der Probenflüssigkeit gelösten Partikel zur Herbeiführung des Konzentrationsausgleiches zurücklegen müssen, in allen Proben gleich. Es tritt demzufolge auch in verschieden langen Proben keine Verfälschung der Meßergebnisse durch unterschiedliche Diffusionszeiten auf. Bei senkrechter Montierung ließen sich solche Fehler nicht vermeiden.

Zur Erzielung einer möglichst homogenen Temperatur wird das Flüssigkeitsgemisch durch einen Preßluftstrom ständig in raschem Umlauf gehalten. Die Preßluft wird von einer im Sockel des Gerätes eingebauten, elektrisch betriebenen Membranpumpe (7) über eine Zelluloidrohrleitung (8) dem Kolben zugeführt und zur Erzielung eines möglichst großen Arbeitseffektes durch einen Kieselgurausströmer (9) in feine Bläschen zerteilt. Diese Einrichtung arbeitet im Gegensatz zu einem Rührwerk völlig erschütterungsfrei, was für die einwandfreie mikroskopische Beobachtung der Proben unerlässlich ist.

Damit sich keine Luftfeuchtigkeit in den innerhalb des Gerätes verlaufenden Teilen der Rohrleitung niederschlagen und diese durch Gefrieren verstopfen kann, wird die Preßluft zur Trocknung durch konzentrierte Schwefelsäure geleitet.

Ein Filter, welches dazu dient, Staubteilchen und andere Verunreinigungen, die mit dem Trockeneis in den Kolben gelangt sind, abzufangen, wird ebenfalls durch die Preßluft betrieben. Derartige Fremdkörper können nämlich, soweit sie doppelbrechend sind, die Beobachtung des Schmelzprozesses sehr stören.

Die größten Schwierigkeiten bei allen nach dem Prinzip von DRUCKER und SCHREINER arbeitenden Geräten bereitet das Heizproblem, von dessen befriedigender Lösung die Erzielung reproduzierbarer Meßergebnisse weitgehend abhängt. Folgende Voraussetzungen müssen zur Erreichung dieses Zieles unbedingt erfüllt sein:

1. Während des Heizvorganges dürfen keine größeren Temperaturschwankungen innerhalb des Bades auftreten.
2. Um den Heizprozeß jederzeit kontrollieren und beherrschen zu können, muß die Heizanordnung möglichst trägheitslos arbeiten.

Es wurde deshalb bei dem hier beschriebenen Gerät ein Heizprinzip erprobt, das sich in der Praxis sehr gut bewährt hat. Das Flüssigkeitsgemisch Methanol — aq. dest. ist praktisch als Nichtleiter anzusprechen. Durch geringen Elektrolytzusatz kann jedoch die Leitfähigkeit in gewünschter Weise gesteigert werden. Schließt man nun zwei Elektroden (11), die in das so vorbereitete Gemisch eintauchen, an das Stromnetz an, so wandern die in der Lösung verteilten Ionen unter dem Einfluß der angelegten Wechselspannung hin und her. Die dem Bade bei diesem Vorgang zugeführte elektrische Energie tritt als Reibungswärme in Erscheinung und dient zur Aufheizung der Flüssigkeit.

Eine solche Heizvorrichtung arbeitet, wie leicht einzusehen ist, völlig trägheitslos. Darüber hinaus erfaßt sie die gesamte Lösungsmenge, heizt also wegen der gleichmäßigen Verteilung der Ionen über den ganzen Flüssigkeitsraum an allen Stellen zugleich. Demzufolge können keine großen Temperaturschwankungen innerhalb des Bades auftreten. Die Forderung thermischer Homogenität ist damit weitgehend erfüllt. Geringe Temperaturdifferenzen, die als Folge der nicht ganz gleichmäßigen Dichte des elektrischen Feldes unvermeidbar sind, werden durch den raschen Umlauf der Flüssigkeit unter der Einwirkung des Preßluftstromes schnell ausgeglichen.

Die angelegte Spannung kann durch einen regulierbaren Widerstand (12) in Potentiometerschaltung (vgl. Schaltskizze Abb. 3) beliebig variiert werden. Dadurch läßt sich gemäß dem OHMSchen Gesetz auch die Stromstärke, die für die Heizintensität ausschlaggebend ist, jederzeit nach Wunsch verändern.

Die Beobachtung der Proben geschieht mit Hilfe eines Horizontalmikroskops (14) (Objektiv: ZEISS 3,2; Okular: ZEISS 6× und 12×). Der Arbeitsabstand des Objektivs beträgt 37 mm. Stärkere Objektive können wegen der Konstruktionseigentümlichkeiten des Gerätes nicht verwandt werden. Da jedoch an das Auflösungsvermögen keine allzugroßen Anforderungen gestellt zu werden brauchen — es kommt ja nicht darauf an, die genaue Form der Eiskristalle festzustellen —, ist die angegebene optische Ausrüstung für den erstrebten Zweck völlig ausreichend.

Vom hinteren Beleuchtungsfenster der Kühlkammer führt ein kurzer Tubus zu einem Wärmefilter (15) (SCHOTT-Farbglass B. G. 19/6 mm), das die von der Lichtquelle ausgesandten Wärmestrahlen weitgehend abfiltert. Als Lichtquelle dient eine elektrische Glühbirne von 20 W, die in einer Fassung des Beleuchtungsansatzes (16) befestigt ist. Vor der Unterbringung des Gehäuses im Kühlschranks wird dieser abgenommen.

Das am vorderen Beobachtungsfenster der Kühlkammer angebrachte Polarisationsfilter wird zu Beginn einer jeden Messung mit Äther gesäubert und zur Vermeidung eines die Beobachtung störenden, ungleichmäßig benetzenden Niederschlages von Kondenswasser mit einer verdünnten NaCl-Lösung bepinselt.

Die Temperatur des Bades wird an einem BECKMANN- oder Normalthermometer mit $1/100^\circ$ -Skalenteilung abgelesen. Zum besseren Abschätzen der Zwischenwerte ist die

Verwendung einer Lupe vorteilhaft. Das Thermometer muß vor Ingebrauchnahme mit einer Standardlösung bekannter Gefrierpunktserniedrigung geeicht werden.

Im Sockel des Gerätes sind Luftpumpe und Elektroinstallation untergebracht. Durch Abheben des Holzgehäuses hat man bequemen Zugang zu allen Teilen. Die Verbindung mit dem Stromnetz wird durch ein Anschlußkabel hergestellt, das zu einem auch die übrigen Zusatzgeräte mit Strom versorgenden Verteiler führt (vgl. Schaltskizze Abb. 3).

Die Heizwiderstände (12) befinden sich unter der als Standfläche für das Horizontalmikroskop dienenden Bühne, deren abgeschrägte Vorderseite die Bedienungsknöpfe trägt. Der Kontakt zwischen Bühne und Sockel des Gerätes wird durch zwei eingebaute Stecker bzw. Kupplungen hergestellt, und kann durch einen einfachen Handgriff jederzeit gelöst werden.¹

2. Schilderung eines Arbeitsganges

Die Kapillaren werden aus peinlichst gesäuberten Glasröhrchen von 3—5 mm Durchmesser gezogen. Am besten geeignet sind Kapillaren mit einem lichten Durchmesser von 50—100 μ . Bei Kapillaren mit kleinerem Durchmesser, der jedoch 20 μ nicht unterschreiten darf, da sonst die Kapillarkräfte störend in Erscheinung treten (vgl. HARGITAY et al. 1951), stellt sich zwar der durch Diffusion herbeigeführte Konzentrationsausgleich innerhalb der Proben schneller ein; der Zeitgewinn, den man auf diese Weise zu erzielen trachtet, bleibt jedoch illusorisch, da die Herstellung und das Beschicken solch feiner Haarröhrchen mit großen Schwierigkeiten verbunden sind. Eine Serienmessung — und eine solche ist bei der Untersuchung von Zellsäften oder anderen Flüssigkeiten biologischen Ursprunges meist nicht zu umgehen, wenn man verlässliche Werte erhalten will — nimmt ohnehin so viel Zeit in Anspruch, daß die Heizgeschwindigkeit kaum über 0,01°C pro 100 sec gesteigert werden kann. Unter diesen Umständen sind auch bei Verwendung von Kapillaren mit einem Durchmesser von etwas mehr als 100 μ noch exakt reproduzierbare Werte zu ermitteln.

Das Vorbereiten und Füllen der Kapillaren geschieht in folgender Weise: Von den bei der Herstellung der Kapillaren übriggebliebenen Glasrohrstücken (deren eines Ende also bereits zu einer Spitze ausgezogen ist) wählt man einige von etwa 5 cm Länge aus. Am besten eignen sich solche mit leicht gebogener Spitze. Erforderlichenfalls wird diese so weit abgebrochen, daß die Kapillaren gerade noch hineinpassen, d. h. der lichte Durchmesser der Spitze muß etwas größer sein als der Außendurchmesser der Kapillaren. Da diese natürlich niemals alle von genau gleicher Stärke sind, ist es vorteilhaft, stets mehrere solcher Führungsröhrchen bereitzuhalten.

Zum Abfüllen der Proben ergreift man eine Kapillare mit einer Pinzette, deren Spitzen mit Gummi o. ä. versehen sind und schiebt sie so weit in das Führungsröhrchen hinein, bis sie sich in dessen Biegung festgeklemmt hat. Ein Abbrechen ist dabei wegen der großen Biegsamkeit der Kapillaren nicht zu befürchten. Auf diese Weise wird verhindert, daß die Kapillare beim nachfolgenden Einsaugen der Proben mit in das Führungsröhrchen gerissen wird. Das andere Ende des letzteren wird mit einem Gummischlauch verbunden, mit dessen Hilfe man die Proben in folgender Weise abfüllt:

Durch leichtes Saugen wird die auf einem Objektträger unter Paraffinöl befindliche Versuchsflüssigkeit in die Kapillare aufgenommen. Vor und hinter jeder Probe wird etwas Paraffinöl eingesogen. Falls genug Flüssigkeit zur Verfügung steht, empfiehlt es sich, zu Vergleichszwecken mehrere Proben in eine Kapillare aufzunehmen. Die Enden der

¹) Für tatkräftige Unterstützung beim Bau des Gerätes wie auch für zahlreiche praktische Ratschläge und Hinweise bin ich Herrn Siegfried BÖLKE zu großem Dank verpflichtet.

Legende zu Tafel 6

Abb. 1: Medianschnitt durch das Gerät

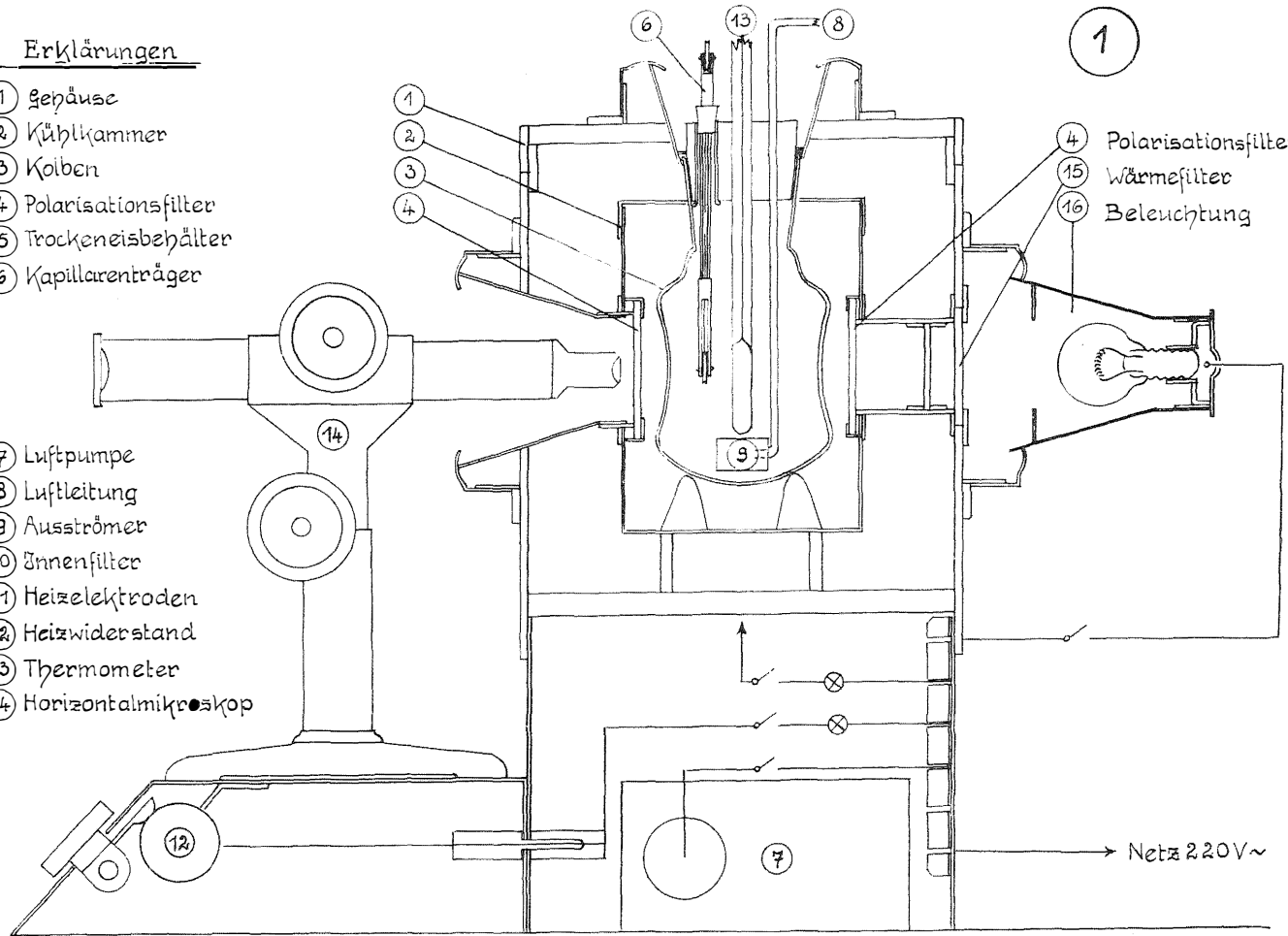
Erklärungen

- ① Gehäuse
- ② Kühlkammer
- ③ Kolben
- ④ Polarisationsfilter
- ⑤ Trockeneisbehälter
- ⑥ Kapillarenträger

- ⑦ Luftpumpe
- ⑧ Luftleitung
- ⑨ Ausströmer
- ⑩ Innenfilter
- ⑪ Heizelektroden
- ⑫ Heizwiderstand
- ⑬ Thermometer
- ⑭ Horizontalmikroskop

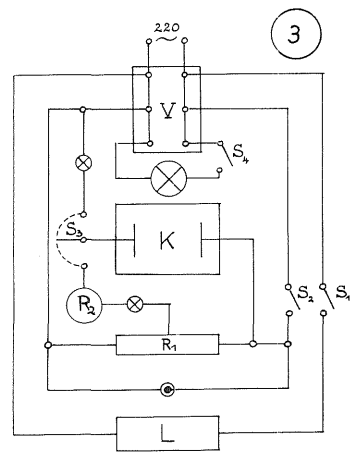
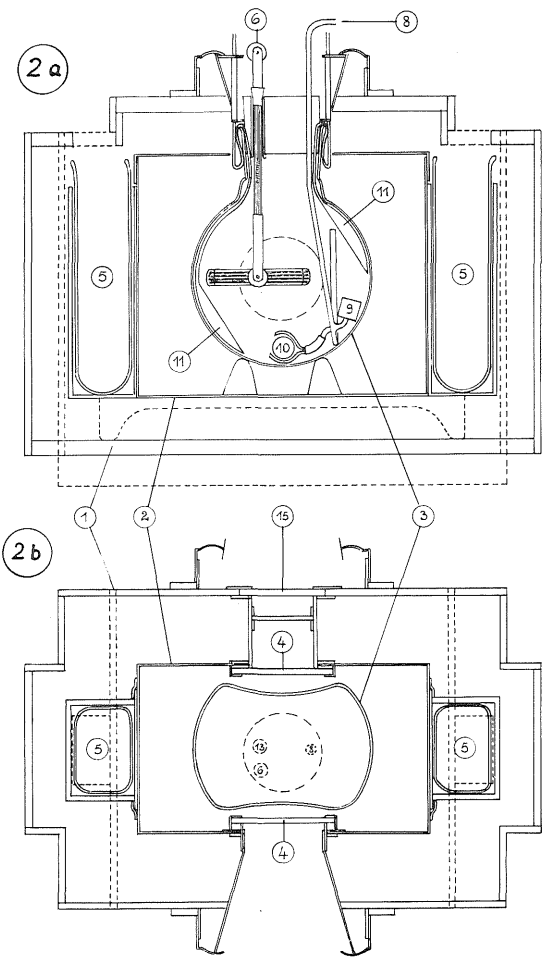
①

- ④ Polarisationsfilter
- ⑬ Wärmefilter
- ⑯ Beleuchtung



Tafel 6

Netz 220V~



Tafel 7

Kapillaren bleiben luftgefüllt, damit das beim Einfrieren der Proben sich bildende Eis Raum zur Ausdehnung hat.

Bei diesen etwas schwierigen Manipulationen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, den Objektträger mit einem Planspiegel zu unterlegen und bei stark gebündelter, seitlicher Beleuchtung vor einem dunklen Hintergrunde zu arbeiten. Man erzielt so einen kontrastreichen Dunkelfeldeffekt, bei dem sowohl die Flüssigkeitströpfchen auf dem Objektträger als auch die schon in den Kapillaren befindlichen Proben infolge unterschiedlicher Lichtbrechung gegenüber dem Paraffinöl ohne weitere optische Hilfsmittel gut zu erkennen sind. Dadurch wird ein sicheres und rasches Arbeiten ermöglicht, was besonders bei Serienmessungen von großem Vorteil ist.

Zur Bestimmung des durchschnittlichen osmotischen Zellsaftpotentials z. B. eines *Chaetomorpha*-Fadens wird aus einer Reihe von Zellen je eine Probe entnommen. Man gewinnt sie durch Anschneiden der Zellen unter Paraffinöl. Der hierbei durch die Rasierklinge o. ä. ausgeübte Druck genügt meist, den Zellsaft in Form eines oder mehrerer Tröpfchen herauspringen zu lassen. Nur ganz klare Tröpfchen (Lupe!) dürfen für die Probenentnahme verwandt werden. Jede Kapillare wird mit etwa 10 Proben beschickt.

Hat man in dieser Weise eine Anzahl von Kapillaren vorbereitet, so wird das Gerät nach inzwischen erfolgter Vorkühlung meßbereit gemacht: die Vorratsbehälter werden mit Trockeneis gefüllt, Thermometer und Beleuchtung angebracht und die Verbindung mit dem Stromnetz hergestellt. Erst unmittelbar vor Meßbeginn werden die fertigen Kapillaren mit Gummilösung verschlossen und auf das Rähmchen des Kapillarenträgers geklebt¹.

Sind alle Vorbereitungen abgeschlossen, so wird der Kapillarenträger zum Einfrieren der Proben kurz in das Gefriergefäß getaucht — wegen der niedrigen Temperatur des Äthers gefrieren die Proben augenblicklich — und darauf in den Kolben übertragen. Nun wird das Rähmchen in der oben beschriebenen Weise (vgl. S. 24) in horizontale Lage gedreht, so daß die Kapillaren mit den im polarisierten Licht hell leuchtenden Eiskristallen im Gesichtsfeld des Mikroskops erscheinen. Durch Kurzschließen des Gerätes (Abb. 3, Schalter S_3) wird nun zunächst stark angeheizt, bis etwa $\frac{2}{3}$ des Eises geschmolzen sind. Dann schaltet man um und reduziert die Heizgeschwindigkeit mit Hilfe des Widerstandes R_1 auf etwa $\frac{1}{100}^0$ Temperaturanstieg in ca 15 sec, bis in den am weitesten abgetauten Proben nur noch wenige sehr kleine Kriställchen übrig sind. Meist bleibt zum Schluß nur noch ein Kristall zurück, da die kleineren wegen ihres höheren Dampfdruckes rascher abschmelzen, während der größte bei vorsichtigem Heizen sogar noch an Umfang zunimmt.

Ist man dem Taupunkt der Proben in der geschilderten Weise nahegekommen, so wird das Gerät zur Herbeiführung eines vollständigen Konzentrationsausgleiches in den Proben für kurze Zeit (1—2 Minuten) ausgeschaltet. Danach reguliert man die Heizgeschwindigkeit so ein, daß die Temperatur des Bades in ein bis zwei Minuten um ca.

¹) Nach zu langem Lagern in verschlossenem Zustande kann es vorkommen, daß die den Kapillarenden am nächsten gelegenen Proben unterschiedliche Gefrierpunktwerte zeigen. Dieses abweichende Verhalten ist anscheinend auf den Einfluß leichtflüchtiger Stoffe aus der Gummilösung zurückzuführen, die nach Lösung im Paraffinöl von dort aus in die benachbarten Proben gelangen. In noch stärkerem Maße wurde dies bei azetonhaltigen Klebstoffen beobachtet.

Legende zu Tafel 7

- Abb. 2a: Frontriß des Gehäuses
Abb. 2b: Aufriß des Gehäuses
Abb. 3 : Schaltskizze.
- } Bedeutung der Zahlen vgl. Abb. 1
- K Glaskolben mit Heizelektroden;
L Luftpumpe; $R_1, 2$ Heizwiderstände;
 $S_{1,4}$ Schalter; V Verteiler; \oplus Lichtquelle und Kontrolllampen.

0,01°C steigt. Nach dem Verschwinden des letzten Kristalles wird das Gerät ausgeschaltet und die Temperatur des Bades notiert. Tritt nach Abkühlung um 0,01 bis 0,02°C kein Eis mehr in Erscheinung, so war alles geschmolzen. Die abgelesene Temperatur gibt dann nach Anbringung der durch Eichung ermittelten Thermometerkorrektur die Gefrierpunktserniedrigung der untersuchten Probenflüssigkeit an.

Bei Serienmessungen zählt man jeweils nach Steigerung der Temperatur um $\frac{1}{100}$ oder $\frac{2}{100}$ °C die zu einer Meßreihe gehörenden Proben aus, notiert die Anzahl der getauten und berechnet nach Beendigung der Messung aus den so erhaltenen Werten in bekannter Weise den Mittelwert.

Beim Vorliegen einer großen Anzahl gleichartiger Proben kann man das Verfahren noch weiter vereinfachen, indem man nur den Wert notiert, bei dem 50% aller Proben geschmolzen sind. Das Abtauen der restlichen braucht dann nicht mehr abgewartet zu werden. Da auf einer Seite des Rähmchens ohne weiteres 10 Kapillaren angebracht werden können, und jede etwa zehn Proben enthält, kann man auf diese Weise ca. 100 Proben in einem einzigen Arbeitsgang erledigen. Eine zweite Probenserie mit voraussichtlich geringerer Gefrierpunktserniedrigung — Anhaltspunkte dafür werden ja in den meisten Fällen gegeben sein — kann auf der anderen Seite des Rähmchens befestigt und nach Drehung desselben um 180° gleich anschließend bearbeitet werden.¹⁾

3. Fehlermöglichkeiten, Anwendungsbereich und Grenzen der Methode

a) Bestimmung des systematischen Fehlers

Unerläßliche Voraussetzung für ein erfolgreiches Arbeiten mit Meßgeräten ist die kritische Prüfung der Frage, welches Vertrauen man in die mit ihrer Hilfe ermittelten Daten setzen darf. Vor einer Mitteilung von Meßergebnissen seien daher zunächst die Fehlermöglichkeiten des beschriebenen Gerätes erörtert.

Bei einem Mikrokryoskop handelt es sich um ein Gerät, mit dessen Hilfe die Gefrierpunktserniedrigung kleinster Flüssigkeitsmengen auf indirektem Wege ermittelt wird. „Indirekt“ bedeutet in diesem Falle: es wird die Temperatur eines Flüssigkeitsbades, in welchem sich die zu untersuchenden Proben befinden, auf dem Umwege über ein Quecksilberthermometer bestimmt. Damit sind offenbar gleich zwei mögliche Fehlerquellen gegeben, denn es ist als sicher anzunehmen, daß sowohl zwischen Bad und Probe als auch zwischen Bad und Quecksilber wegen des geringen Wärmeleitvermögens der gläsernen Kapillar- bzw. Thermometerwandungen ein Temperaturunterschied besteht.

Die folgenden Ausführungen sollen der wenigstens größenordnungsmäßigen Erfassung des hierdurch bedingten Ablesefehlers dienen.

Für den Wärmestrom Q/t (Q = Wärmemenge in cal; t = Zeit in sec), der die gläserne Wand des Hg-Gefäßes bzw. der Probekapillare durchfließt, gilt nach den Gesetzen der Wärmelehre die Gleichung:

$$Q/t = - 2 \cdot \pi \cdot L \cdot \lambda \cdot \frac{T_a - T_i}{\ln r_a / r_i}$$

In dieser Gleichung bedeuten: λ = Wärmeleitzahl des Glases; L = Länge des Hg-Gefäßes bzw. der untersuchten Probe; T_a resp. T_i Außen- bzw. Innentemperatur;

¹⁾Es liegt in der Natur der Sache, daß über die Dauer einer solchen Messung keine verbindlichen Angaben gemacht werden können. Sie hängt weitgehend von dem Geschick des Experimentators ab. Gute Einarbeitung vorausgesetzt, können bei günstigen Versuchslösungen — z.B. Zellsaft von Characoen — 200 Proben mit allen dazugehörigen Vorbereitungen in etwa vier Stunden erledigt sein. Die Messung selbst beansprucht ein bis eineinhalb Stunden.

r_a bzw. r_i Außen- bzw. Innenradius der Kapillare bzw. des Thermometergefäßes. (Nähere Einzelheiten bzgl. Ableitung dieser Gleichung usw. siehe GRÖBER 1926; KESSELER 1957).

Obige Gleichung besagt, daß bei gegebener Rohrlänge L und Temperaturdifferenz ΔT die in der Zeiteinheit übergehende Wärmemenge, der Wärmestrom, allein von dem Verhältnis der Radien bzw. Durchmesser bestimmt wird, nicht aber von ihrer absoluten Größe.

In der folgenden Tabelle gibt die oberste Reihe die für das Hg-Gefäß des Thermometers ermittelten Werte wieder. Die Angaben der zweiten Reihe stellen gute Durchschnittswerte der für die Messungen benutzten Kapillaren bzw. der untersuchten Proben dar.

Tabelle 1

L (cm)	r_a (cm)	r_i (cm)	r_a/r_i	$\ln r_a/r_i$	$Q/t \left(\frac{\text{cal}}{\text{sec}} \right)$
4,6	0,45	0,4	1,125	$1,18 \cdot 10^{-1}$	$2,8 \cdot 10^{-3}$
$3,18 \cdot 10^{-2}$	$1,70 \cdot 10^{-2}$	$1,00 \cdot 10^{-2}$	1,70	$5,3 \cdot 10^{-1}$	$4,3 \cdot 10^{-6}$

Setzt man in Gleichung 1 für das Hg-Gefäß des Thermometers bzw. die Probekapillaren die entsprechenden Werte aus der Tabelle I ein, so erhält man bei einer angenommenen Temperaturdifferenz von $5 \cdot 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ für den Wärmestrom Q/t die in der letzten Spalte aufgeführten Ergebnisse.

Zur Berechnung der durch einen Wärmestrom der angegebenen Größe verursachten Temperaturerhöhung des Thermometerquecksilbers bzw. der Probenflüssigkeit muß noch deren Wärmekapazität W bekannt sein. W gibt an, welche Wärmemenge erforderlich ist, um einen Körper von der Dichte ρ , der spezifischen Wärme c und dem Volumen V um $1 \text{ }^\circ\text{C}$ zu erwärmen. Im vorliegenden Falle muß also die entsprechende Gleichung lauten:

$$2) \quad W = r_i^2 \cdot \pi \cdot L \cdot \rho \cdot c$$

Nach Einsetzen der ρ - und c -Werte (vgl. KOHLRAUSCH 1947) erhält man für Wasser bzw. Hg für die zur Erwärmung um $5 \cdot 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ erforderlichen Wärmemengen folgende Ergebnisse:

- a) Thermometer $5,175 \cdot 10^{-3} \text{ cal}$
- b) Probe $1,25 \cdot 10^{-8} \text{ cal}$

Bei einem Vergleich mit den für den Wärmestrom ermittelten Werten folgt daraus für das Thermometer, daß erst bei einer Temperatursteigerung des Bades von $0,01 \text{ }^\circ\text{C}$ in weniger als 4 sec der am Thermometer abgelesene Wert um $5 \cdot 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ korrigiert werden müßte, um die wirkliche Temperatur des Bades zu ermitteln. Eine solche T-Steigerung käme aber der 10 bis 20fachen tatsächlichen Heizgeschwindigkeit gleich. Bei einer Thermometerablesenauigkeit von $5 \cdot 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ kann daher eine Korrektur unterbleiben.

Noch günstiger liegen die Verhältnisse bei den Proben. Sie stehen praktisch im Temperaturgleichgewicht mit der Außenlösung. Diese Feststellung unterstreicht die große Bedeutung der thermischen Homogenität des Flüssigkeitsbades als Voraussetzung für die Erzielung exakt reproduzierbarer Meßergebnisse. Ist diese Voraussetzung erfüllt, so kann unter den hier geschilderten Bedingungen der durch die indirekte Temperaturmessung verursachte systematische Fehler vernachlässigt werden.

b) Weitere Fehlermöglichkeiten

Die reibungslose Einstellung des Temperaturgleichgewichtes zwischen Bad und Probe bietet allein noch keine Gewähr dafür, daß die beim Verschwinden des letzten Eis-

kristalles am Thermometer abgelesene Temperatur auch wirklich der Gefrierpunkts-erniedrigung der untersuchten Probe entspricht. Dies ist nur dann der Fall, wenn die Temperatursteigerung so langsam erfolgt, daß die durch das Abschmelzen des Eises verursachten Konzentrationsunterschiede, die nur durch Diffusion ausgeglichen werden können, nicht mehr ins Gewicht fallen. Um diese Fehlermöglichkeiten ausschließen zu können, müssen die Gesetzmäßigkeiten berücksichtigt werden, nach denen sich Diffusionsvorgänge in wäßrigen Lösungen vollziehen.

Bei bekannter Diffusionsstrecke x läßt sich die für den Konzentrationsausgleich benötigte Zeit t mit Hilfe des ersten Fickschen Diffusionsgesetzes berechnen. Nach diesem gilt:

$$3a) \quad \frac{dm}{dt} = -F \cdot D \frac{dc}{dx}$$

Es ist also die in dem Zeitintervall dt durch die Fläche F hindurchtretende Stoffmenge dm proportional der Größe dieser Fläche, der Diffusionskonstanten D und dem Konzentrationsgefälle $-\frac{dc}{dx}$.

Durch zweckentsprechende Umformung erhält man aus Gleichung 3 die zur Berechnung von t geeignete Formel:

$$3b) \quad t = \frac{x^2}{2D} \quad (\text{vgl. NETTER 1951})$$

Mit Hilfe dieser Gleichung läßt sich bei gegebenem x die zur Herbeiführung des Konzentrationsausgleiches eines Stoffes mit bekannter Diffusionskonstante benötigte Zeit t berechnen, vorausgesetzt, daß während dieser Zeit keine weiteren Konzentrationsstörungen erfolgen.

Die wichtigste Aussage der Gleichung 3b ist, daß die Zeit t von der zu Anfang herrschenden Konzentration unabhängig und nur dem Quadrat der Strecke x proportional ist. Demgemäß ist bei horizontaler Stellung der Kapillaren selbst dann die Gewähr für einen gleichmäßigen Ablauf der Diffusionsvorgänge gegeben, wenn die Proben verschieden lang oder gar von unterschiedlicher Konzentration sind.

Zur Veranschaulichung dieser Verhältnisse sind in Tabelle II einige Werte für die zum Konzentrationsausgleich von Rohrzucker- ($D = 0,358 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$) bzw. NaCl-Lösungen ($D = 1,28 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$) benötigten Zeiten (t) bei verschiedenem Kapillardurchmesser (x) aufgeführt.

Tabelle II

Kapillar- ϕ	Rohrzucker	NaCl
$x = 50 \mu$	$t = 3,5 \text{ sec}$	$t = 1 \text{ sec}$
$x = 70 \mu$	$t = 7,0 \text{ sec}$	$t = 2 \text{ sec}$
$x = 100 \mu$	$t = 14,0 \text{ sec}$	$t = 4 \text{ sec}$
$x = 150 \mu$	$t = 32,0 \text{ sec}$	$t = 9 \text{ sec}$
$x = 200 \mu$	$t = 55,0 \text{ sec}$	$t = 16 \text{ sec}$
$x = 300 \mu$	$t = 125,0 \text{ sec}$	$t = 36 \text{ sec}$
$x = 500 \mu$	$t = 350,0 \text{ sec}$	$t = 100 \text{ sec}$

Diese Zusammenstellung zeigt, daß bei Untersuchungen von Lösungen biologischen Ursprungs, die immer gewisse Mengen an organischen Stoffen mit sehr kleinem D enthalten — Rohrzucker hat wegen seines großen Moleküldurchmessers einen besonders kleinen Diffusionskoeffizienten —, Kapillaren mit einem Durchmesser von mehr als 100μ nur noch mit Vorbehalt benutzt werden dürfen, wenn man zu lange Versuchszeiten vermeiden will.

Es wurde bereits festgestellt, daß die oben mitgeteilten Gleichungen nur dann die wirklichen Verhältnisse richtig beschreiben, wenn die zum Konzentrationsausgleich führenden Diffusionsvorgänge ungestört ablaufen können. Das ist jedoch — genau genommen — niemals der Fall, weil durch den Heizvorgang dauernd neues Schmelzwasser aus dem Resteis frei wird und zwar bei gegebener Heizintensität um so mehr, je verdünnter die untersuchte Probe ist. Dies sei an einem Beispiel erläutert:

Gegeben sind zwei Proben eines idealen Nichtelektrolyten mit den Konzentrationen 1,00 Mol/l bzw. 0,01 Mol/l. Die theoretischen Gefrierpunktserniedrigungen dieser idealen Lösungen betragen dann $-1,86^{\circ}\text{C}$ resp. $-0,0186^{\circ}\text{C}$. Es seien nun die Verhältnisse betrachtet, die in beiden Lösungen $1/100^{\circ}$ vor Erreichen des Taupunktes, d. h. also bei $-1,87^{\circ}\text{C}$ bzw. bei $-0,0286^{\circ}\text{C}$ bestehen.

Nach dem RAOULTSchen Gesetz entsprechen diesen Temperaturen Konzentrationen von rund 1,005 mol bzw. 0,015 mol. Während also bis zum Erreichen der Gefrierpunkte in beiden Fällen noch ein Temperaturintervall von $0,01^{\circ}\text{C}$ durchlaufen werden muß, ändert sich dabei die Konzentration der einmolaren Probe nur um ca. 0,5%, während in der zweiten Probe eine Verdünnung um etwa 45% stattfindet. Infolgedessen schwimmen hier die letzten Eiskristalle in einer relativ viel verdünnteren Lösung, wenn die Heizgeschwindigkeit in beiden Fällen die gleiche ist. Der hierdurch bedingte Ablesefehler kann in Anbetracht der ohnehin nur geringen Gefrierpunktserniedrigung sehr verdünnter Lösungen so groß werden, daß die erhaltenen Werte nicht mehr als korrekt betrachtet werden können.

Im gleichen negativen Sinne muß sich auch die unter diesen Bedingungen viel zu langsame Zufuhr der plötzlich benötigten Schmelzwärme auswirken. Bei einem Proben-
volum von $0,25 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3$ würde diese beispielsweise

$$0,25 \cdot 10^{-5} \cdot 0,35 \cdot 80 = 7,0 \cdot 10^{-5} \text{ cal}$$

betragen. Da bei einer angenommenen Temperaturdifferenz von $5 \cdot 10^{-3} \text{ C}$ zwischen Bad und Probe aber nur $4,35 \cdot 10^{-6} \text{ cal}$ pro Sekunde zugeführt werden, ergibt sich hieraus, daß der Schmelzvorgang 16 sec dauern würde.

Auf die Praxis übertragen besagt dieses Beispiel, daß die mikrokryoskopische Methode bei Lösungen sehr geringer Konzentrationen (kleiner als 0,05 mol $\Delta t = -0,093^{\circ}\text{C}$) keine exakt reproduzierbaren Werte mehr liefert, es sei denn, man verwendet sehr feine Kapillaren oder geht zu sehr kleinen Heizgeschwindigkeiten über. Beide Maßnahmen sind jedoch bei biologischen Objekten nur in sehr beschränktem Maße anwendbar, da Serienmessungen unter solchen Umständen nur noch mit großen Schwierigkeiten durchgeführt werden können.

Bei dem Versuch, das osmotische Potential von reinen Kolloidlösungen zu bestimmen, versagt die Methode schließlich ganz und zwar aus folgenden Gründen:

1. Kolloide Lösungen haben wegen des sehr großen Molekulargewichtes der darin gelösten Stoffe meist nur sehr geringe Konzentrationen, für welche die Methode gemäß den obigen Ausführungen nur ungenaue Werte liefert.
2. Höhere Konzentrationen solcher Stoffe bewirken eine starke Viskositätserhöhung der betreffenden Lösung, die eine Verzögerung der Diffusionsvorgänge zur Folge hat.
3. Die Diffusionsgeschwindigkeit kolloidaler Teilchen ist wegen ihres großen Durchmessers auch in Lösungen niedriger Viskosität so gering, daß die zur Herbeiführung des Konzentrationsausgleiches benötigten Zeiten untragbar lang werden würden.

c) Grenzen der Methode

Durch die mitgeteilten Beispiele und Feststellungen werden die Grenzen der Anwendbarkeit der mikrokryoskopischen Methode auf Lösungen biologischen Ursprungs, die ja zumeist sowohl kolloide als auch kristalloide Stoffe enthalten, klar umrissen: Sie führt bei derartigen Lösungen nur dann zu verlässlichen Ergebnissen, wenn deren Kolloidgehalt gering ist und die Gefrierpunktserniedrigung nicht weniger als $0,1^{\circ}\text{C}$ beträgt. Die praktisch tragbare untere Grenze für reine Kristalloidlösungen liegt etwa bei $-0,05^{\circ}\text{C}$. Bei Seewasserlösungen entspricht dieser Wert einem Salzgehalt von rund $1^{\circ}/_{00}$.

KUHN und MAJER haben jüngst auf eine Fehlerquelle aufmerksam gemacht, welche bei der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung an ganzen Zellen oder Gewebsschnitten (vgl. PICHOTKA und HÖFLER 1954) zu sehr fragwürdigen Ergebnissen führen kann. Bei ausgedehnten Untersuchungen an verschiedenen Gelen zeigte sich, daß sich in dem Maschenwerk der miteinander vernetzten Fadenmoleküle nur Mikrokristalle bilden, die einen weit höheren Dampfdruck haben als große Eiskristalle. Ein solches System wird also, da die Gefrierpunktserniedrigung dem Dampfdruck umgekehrt proportional ist, schon bei niedrigerer Temperatur den zum Tauen erforderlichen Dampfdruck besitzen und daher eine viel zu hohe Konzentration vortäuschen. Die gemessene Gefrierpunktserniedrigung ist also in solchen Fällen ein Maß für die Größe der gebildeten Kristalle und nicht mehr der Konzentration der untersuchten Flüssigkeit proportional. Sie ist „... die Summe eines Betrages, welcher von Menge und Molekulargewicht der gelösten Stoffe herrührt und eines Beitrages, welcher durch die Größe der zur Ausscheidung gelangenden Kristalle bestimmt wird. In Gelen, welche von Fadenmolekülen gebildete Netzstrukturen enthalten, kann der zweite Summand mehrere Grad betragen.“ (KUHN und MAJER 1956, p. 348).

Zur Verminderung solcher Fehler muß man also darauf achten, daß bei der Gefrierpunktbestimmung nur Makrokristalle in den untersuchten Proben vorliegen. Die Bildung von Mikrokristallen gibt sich durch ein diffuses Leuchten der ganzen Probe zu erkennen, das bei Temperatursteigerung an Intensität verliert, ohne daß gegen Ende der Messung einzelne Kristalle unterschieden werden könnten. In solchen Fällen kann man sich manchmal dadurch helfen, daß man die Proben mehrmals hintereinander einfriert. Dadurch wird das Maschengitter der Fadenmoleküle gesprengt und die Entstehung größerer Kristalle ermöglicht.

4. Leistungsfähigkeit der Methode

Zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit der Methode unter optimalen Bedingungen wurden die osmotischen Potentiale von je 10 Proben dreier NaCl-Lösungen von $5^{\circ}/_{00}$, $10^{\circ}/_{00}$ und $20^{\circ}/_{00}$ (z. B. g in 1000 ml) bestimmt. Bei einer Thermometerablesenauigkeit von $0,005^{\circ}\text{C}$ wurden dafür die in Tabelle III angegebenen Werte ermittelt. Die Heizgeschwindigkeit betrug 90 bis $95 \text{ sec je } 0,01^{\circ}$ Temperatursteigerung. Mit Hilfe eines Okularmikrometers wurden aus Probenlänge und lichtem Kappillardurchmesser die Probenvolumina bestimmt, um eine eventuelle Beeinflussung des Meßergebnisses durch die unterschiedliche Größe der einzelnen Proben feststellen zu können. Unter den hier realisierten Versuchsbedingungen war jedoch ein solcher Effekt nicht zu erkennen.

Tabelle III

Nr.	5 ⁰ / ₀₀ NaCl-Lösung			10 ⁰ / ₀₀ NaCl-Lösung			20 ⁰ / ₀₀ NaCl-Lösung		
	Kapillar- $\varnothing = 65\mu$			Kapillar- $\varnothing = 105\mu$			Kapillar- $\varnothing = 105\mu$		
	$\Delta t^{\circ} \text{C}$	Länge μ	Volum mm^3	$\Delta t^{\circ} \text{C}$	Länge μ	Volum mm^3	$\Delta t^{\circ} \text{C}$	Länge μ	Volum mm^3
1	-0,310	200	6,7 · 10 ⁻⁴	-0,600	335	2,9 · 10 ⁻³	-1,190	290	2,5 · 10 ⁻³
2	-0,305	210	7,0 · 10 ⁻⁴	-0,600	310	2,7 · 10 ⁻³	-1,190	355	2,1 · 10 ⁻³
3	-0,300	205	6,8 · 10 ⁻⁴	-0,600	380	3,3 · 10 ⁻³	-1,200	200	1,7 · 10 ⁻³
4	-0,300	190	6,4 · 10 ⁻⁴	-0,605	245	2,1 · 10 ⁻³	-1,195	220	1,9 · 10 ⁻³
5	-0,300	245	8,2 · 10 ⁻⁴	-0,605	265	2,3 · 10 ⁻³	-1,195	245	2,1 · 10 ⁻³
6	-0,300	175	5,9 · 10 ⁻⁴	-0,605	265	2,3 · 10 ⁻³	-1,200	245	2,1 · 10 ⁻³
7	-0,300	220	7,4 · 10 ⁻⁴	-0,595	335	2,9 · 10 ⁻³	-1,200	255	2,3 · 10 ⁻³
8	-0,300	275	9,3 · 10 ⁻⁴	-0,595	335	2,9 · 10 ⁻³	-1,195	290	2,5 · 10 ⁻³
9	-0,300	225	7,5 · 10 ⁻⁴	-0,600	220	1,9 · 10 ⁻³	-1,200	245	2,1 · 10 ⁻³
10	-0,305	210	7,0 · 10 ⁻⁴	-0,600	290	2,5 · 10 ⁻³	-1,205	180	1,6 · 10 ⁻³
m = -0,302 ± 0,0033°C			m = -0,600 ± 0,0036°C			m = -1,197 ± 0,0045°C			
fm = ± 0,0011°C			fm = ± 0,0012°C			fm = ± 0,0015°C			
σ = ± 0,0035°C			σ = ± 0,00375°C			σ = ± 0,0048°C			

Auf Grund der Tabellenwerte ergeben sich für die Leistungsfähigkeit der Methode für verdünnte Kristalloidlösungen folgende Resultate:

Gefrierpunktserniedrigung	relativer Fehler
$\Delta t = -0,300^{\circ}\text{C}$	1,0%
$\Delta t = -0,600^{\circ}\text{C}$	0,5%
$\Delta t = -1,200^{\circ}\text{C}$	0,5%

Die Zunahme des relativen Fehlers beim Übergang zu niedrigeren Konzentrationen ist hier durch die relativ geringere Ablesegenauigkeit bedingt und nicht eine Folge des Verdünnungseffektes, der sich erst bei Gefrierpunktdepressionen von weniger als 0,1°C bemerkbar macht.

C. Untersuchungen an Meeresalgen

Hierfür kommen naturgemäß nur solche Formen in Frage, aus deren Zellen sich ohne allzugroße Schwierigkeiten reiner Saft gewinnen läßt. Die Zellen dürfen also nicht zu klein sein und müssen darüber hinaus eine große Vakuole besitzen.

Folgende leicht zu beschaffenden einheimischen Arten genügten den genannten Bedingungen und wurden durch zahlreiche Messungen eingehend untersucht.¹⁾

1. *Bryopsis plumosa* (Siphonales)
2. *Chaetomorpha linum* (Cladophorales)
3. *Chara baltica* (Charales)

Hier sollen nur einige Beispiele solcher Messungen mitgeteilt werden.

1. *Bryopsis plumosa*

Bryopsis plumosa gehört zu den Siphoneen, bei denen die Begriffe „Zelle“ und „Individuum“ nicht scharf voneinander getrennt werden können. Der einheitliche, vielkernige Protoplast umschließt hier eine große, von Plasmasträngen und -septen durchsetzte Vakuole, aus der sich der Saft durch Anschneiden unter Paraffinöl leicht in genügender Menge gewinnen läßt. Er ist von schwach gelblicher Färbung und enthält offenbar eiweißartige Stoffe gelöst (OLTMANN 1922), die leicht zur Koagulation gebracht werden können (BECKEROWA 1935) und zur Filmbildung an Grenzflächen neigen. Diese Eigen-

¹⁾ Herrn Kapitän Hans OHL und der Besatzung des Forschungskutters „Südfall“ danke ich für die Hilfe beim Sammeln und Einbringen des Versuchsmaterials.

schaft des Saftes machte sich beim Abfüllen der Proben häufig sehr störend bemerkbar, indem letztere an den Kapillarwandungen haften blieben und beim Nachsaugen von Paraffinöl in der Kapillare „verschmiert“ wurden. Da man jedoch nahezu beliebig viele Proben aus einer Pflanze entnehmen kann, ließ sich trotzdem die Gefrierpunkterniedrigung des Saftes durch Serienmessungen mit großer Genauigkeit bestimmen, wie aus Tabelle IV und Abb. 4, (Tafel 8) zu ersehen ist.

Die Umrechnung der Tabellenwerte ergibt nach Anbringung der Thermometerkorrektur (+ 0,08°C) eine mittlere Gefrierpunkterniedrigung von

$$\Delta t_m = -0,93 \pm 0,007^\circ\text{C}$$

Durch Multiplikation dieses Ergebnisses mit dem Faktor 12,1¹⁾ erhält man hieraus das osmotische Potential des Zellsaftes in Atmosphären:

$$\pi_z = 11,25 \pm 0,081 \text{ Atm}$$

Da bei Meeresalgen im osmotischen Gleichgewicht keine aktiven Saugkräfte vorkommen (HOFFMANN 1935), läßt sich aus diesem Wert der Turgor in einfacher Weise durch Subtraktion des osmotischen Potentials des Außenmediums (π_A) ermitteln. Dieses wurde zu 9,05 Atm bestimmt. Somit ergibt sich für den Turgor (p_T)

$$p_T = 2,20 \pm 0,08 \text{ Atm} \\ = 2,20 \pm 3,7 \%$$

Tabelle IV

Ergebnisse einer Serienmessung zur Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung des Zellsaftes von *Bryopsis plumosa*

$\Delta t^\circ\text{C}$	z	Σz	$\Sigma z\%$	$\Delta t \cdot z$	f	f ²	z · f ²
-0,92	1	1	1,8	0,92	7	49	49
-0,91	0	1	1,8	0,00	6	36	00
-0,90	1	2	3,6	0,90	5	25	25
-0,89	0	2	3,6	0,00	4	16	00
-0,88	0	2	3,6	0,00	3	9	00
-0,87	2	4	7,2	1,74	2	4	08
-0,86	4	8	14,3	3,44	1	1	04
-0,85	22	30	54,0	18,70	0	0	00
-0,84	21	51	89,0	17,64	1	1	21
-0,83	3	54	96,5	2,49	2	4	12
-0,82	1	55	98,2	0,82	3	9	09
-0,81	0	55	98,2	0,00	4	0	00
-0,80	1	56	100,0	0,80	5	25	25
		56		47,45			153

In Tabelle IV bedeuten: z = Anzahl der bei der jeweiligen Temperatur getauten Proben; f = Abweichung der Schmelztemperatur vom arithmetischen Mittel in Einheiten der zweiten Dezimale.

Aus den Angaben der folgenden Tabelle V, die an Saftproben aus drei verschiedenen Regionen einer Bryopsispflanze gewonnen wurden, ist der Schluß zu ziehen, daß innerhalb einer Pflanze trotz des weitläufig verzweigten Vakuolensystems, dessen einzelne Abschnitte oft durch Plasmasepten voneinander getrennt sind, offenbar Isotonie besteht. Der an einer beliebigen Saftprobe ermittelte Wert für dessen osmotisches Potential darf daher ohne weiteres als charakteristisch für die ganze Pflanze betrachtet werden.

¹⁾ Dieser Faktor ergibt sich durch Division des osmotischen Potentials einer einmolaren Lösung eines idealen Nichteletkrolyten (= 22,412 Atm) durch die Gefrierpunktsdepression einer solchen Lösung (= -1,86°C).

Tabelle V

Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung des Zellsaftes aus verschiedenen Regionen einer Bryopsispflanze

Δt °C	Basis = 17 Pr.		Mitte = 18 Pr.		Spitze = 19 Pr.	
	z	Σz	z	Σz	z	Σz
—0,87	1	1	0	0	2	2
—0,86	2	3	7	7	7	9
—0,85	10	13	7	14	6	15
—0,84	3	16	3	17	3	18
—0,83	1	17	1	18	1	19
Mittel	—0,85 \pm 0,006		—0,852 \pm 0,006		—0,845 \pm 0,006	

Die geringfügigen Differenzen der Mittelwerte liegen innerhalb der Fehlergrenze.

Schließlich seien in Tabelle VI noch Turgorwerte von Pflanzen aufgeführt, die zu verschiedenen Jahreszeiten und zum Teil auch an verschiedenen Fundorten gesammelt wurden.

Tabelle VI

Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung des Zellsaftes von Bryopsis, zu verschiedenen Jahreszeiten

Datum	S ‰	pt Atm	Standort
19. 6. 1954	15	2,60	Friedrichsorter Leuchtturm
19. 6. 1954	15	1,95	Friedrichsorter Leuchtturm
26. 8. 1954	23	2,10	Friedrichsorter Leuchtturm
26. 8. 1954	23	2,40	Friedrichsorter Leuchtturm
9. 9. 1954	16	2,50	Friedrichsorter Leuchtturm
21. 9. 1954	20	2,15	Friedrichsorter Leuchtturm
21. 9. 1954	20	2,00	Friedrichsorter Leuchtturm
21. 9. 1954	20	1,95	Friedrichsorter Leuchtturm
21. 9. 1954	20	1,85	Friedrichsorter Leuchtturm
30. 6. 1955	14	1,90	Friedrichsorter Leuchtturm
30. 6. 1955	14	2,25	Friedrichsorter Leuchtturm
1. 8. 1955	14	2,10	Friedrichsorter Leuchtturm
18. 8. 1955	17,5	2,50	Schilksee (Torpedobootsbrücke)
28. 8. 1955	14	2,30	Schilksee (Torpedobootsbrücke)

Aus den angeführten 14 Bestimmungen ergibt sich ein Durchschnittsturgor von

$$\begin{aligned} p_T &= 2,2 \pm 0,225 \text{ Atm} \\ &= 2,2 \pm 10 \% \end{aligned}$$

Demgegenüber bestimmte KYLIN (1938) am gleichen Objekt auf plasmolytischem Wege einen Og-Wert (= osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse) von 44 Atm. Nach Abzug des osmotischen Potentials des Standortwassers der Pflanzen (23 Atm) bleiben demnach noch 21 Atm, die als Turgor hätten realisiert sein müssen. Nach dem schon von anderen Autoren (KOTTE 1914; COLLANDER 1930; HOFFMANN 1932a; 1935; BÜNNING 1935) auf die zahlreichen Fehlerquellen aufmerksam gemacht wurde, die bei

der plasmolytischen Bestimmung des osmotischen Zellsaftpotentials zu berücksichtigen sind, zeigt dieses Beispiel noch einmal mit aller Deutlichkeit, wie kritisch alle Ergebnisse zu betrachten sind, die mit der Plasmolysemethode an Meeresalgen gewonnen wurden.

2. *Chaetomorpha linum*

Auch aus den relativ großen, vielkernigen Zellen von *Chaetomorpha linum* läßt sich der Saft durch Anschneiden unter Paraffinöl noch verhältnismäßig leicht gewinnen. Wie man dabei zu verfahren hat, wurde bereits auf Seite 27 beschrieben. Es kommen für solche Untersuchungen natürlich nur kräftige Formen dieser sehr variablen Art (vgl. LAKOWITZ 1929) in Frage, deren Fäden etwa 300—500 μ Durchmesser besitzen.

a) Untersuchung des Saftes einer Zelle

Aus einem relativ großen Safttröpfchen einer einzigen Zelle wurden 9 Proben entnommen und die Gefrierpunktserniedrigung jeder einzelnen Probe genau bestimmt. Die dabei ermittelten Werte sind in der folgenden Tabelle VII zusammengestellt.

Tabelle VII
Saftproben aus einer Zelle

Nr.	$\Delta t^{\circ}\text{C}$	Nr.	$\Delta t^{\circ}\text{C}$	Nr.	$\Delta t^{\circ}\text{C}$
1	-3,190	4	-3,170	7	-3,175
2	-3,160	5	-3,175	8	-3,175
3	-3,165	6	-3,175	9	-3,190

Der korrigierte Mittelwert der Gefrierpunktserniedrigungen dieser Saftproben beträgt:

$$\Delta t_m = -3,26 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$$

Die Berechnung des Turgors ergab:

$$\begin{aligned} p_T &= 16,3 \pm 0,12 \text{ Atm} \\ &= 16,3 \pm 0,75 \% \end{aligned}$$

Sowohl die Ergebnisse dieses Versuches, als auch die für den Zellsaft von Bryopsis gewonnenen Ergebnisse (Tab. IV u. V) zeigen, daß beim Übergang zu Flüssigkeiten biologischen Ursprungs bei vergleichbarer Probenzahl und Gefrierpunktserniedrigung der mittlere Fehler einer Messung gegenüber dem bei verdünnten Mineralsalzlösungen festgestellten auf den zwei- bis dreifachen Wert ansteigt. Die Zunahme der Fehlerbreite muß also auf der Natur der untersuchten Flüssigkeit beruhen. Ihr Zustandekommen kann man sich auf folgende Weise erklären:

Beim Anschneiden der Zellen wird auch das Protoplasma verletzt. Der austretende Zellsaft ist daher immer mit Bestandteilen desselben wie Chloroplastenstückchen, Stärkekörnchen und Eiweißbestandteilen — vor allem Fermentmolekülen — vermischt. Die einzelnen Proben, die durchschnittlich in der Größenordnung von 10^{-3} mm^3 liegen, können nun recht unterschiedliche Mengen dieser Fremdbestandteile enthalten. Infolgedessen dürfen sie nicht mehr als homogen im Sinne einer idealen Lösung betrachtet werden. Bei den aufgezählten Stoffen handelt es sich zwar um Substanzen, die entweder osmotisch unwirksam sind oder aber — das gilt z.B. für kolloid gelöste Stoffe — nur einen so geringen osmotischen Effekt haben, daß dieser nicht als Ursache für den Fehlbetrag in Frage kommen kann. Demgegenüber ist zu bedenken, daß sowohl durch den Gefrierprozeß als auch durch ungehemmte Abbauvorgänge von seiten gelöster Fermentmoleküle eine Umwandlung hochmolekularer Stoffe in osmotisch aktive Substanzen denkbar ist.

b) Saftproben aus mehreren Zellen eines Fadens

Bei Proben aus verschiedenen Zellen eines Fadens ist nach dem oben Gesagten eine noch stärkere Streuung der Werte nicht verwunderlich, da schon ein einfacher Plasmolyseversuch zeigt, daß die unterschiedlichen physiologischen Zustände der einzelnen Zellen auch in der Größe ihres osmotischen Zellsaftpotentials zum Ausdruck kommen. Auch die in Tabelle VIII mitgeteilten Ergebnisse, die durch Entnahme von 48 Proben aus ebensoviele Zellen eines Fadens gewonnen wurden, zeigen dies deutlich.

Nach Anbringen der Thermometerkorrektur (+ 0,08°C) erhält man aus diesen Daten als Mittelwert:

$$\Delta t_m = -2,31 \pm 0,028^\circ\text{C}$$

Der mittlere Turgor des untersuchten Fadens betrug:

$$p_T = 14,6 \pm 0,34 \text{ Atm}$$

$$= 14,6 \pm 2,3 \%$$

Tabelle VIII
Gefrierpunktserniedrigungen von Saftproben aus mehreren Zellen eines Fadens

$\Delta t^\circ\text{C}$	z	Σz	$\Sigma z \%$	$\Delta t \cdot z$	f	f^2	$z \cdot f^2$
-2,35	2	2	4	4,70	13	169	338
-2,33	2	4	8	4,66	11	121	242
-2,31	4	8	17	9,24	9	81	324
-2,29	3	11	23	6,87	7	49	147
-2,27	2	13	27	4,54	5	25	50
-2,25	8	21	44	18,00	3	9	72
-2,23	5	26	54	11,15	1	1	5
-2,21	7	33	69	15,47	1	1	7
-2,19	4	37	77	8,76	3	9	36
-2,17	7	44	92	15,19	5	25	175
-2,15	1	45	94	2,15	7	49	49
-2,13	0	45	94	0,00	9	81	0
-2,11	1	46	96	2,11	11	121	121
-2,09	1	47	98	2,09	13	169	169
-2,07	1	48	100	2,07	15	225	225
		48		107,00			1960

Wie Abbildung 5 (Tafel 8) zeigt, ist die in diesem Versuch gewählte Klassenbreite von 0,02°C noch viel zu klein. Erst bei Wahl einer solchen von 0,06°C nähert sich die Kurve der Glockenform der Normalverteilung.

c) Untersuchung des Saftes von Zellen verschiedener Fäden

Bei Untersuchung des Saftes von Zellen verschiedener Fäden ergab sich, daß die individuellen Unterschiede von Faden zu Faden nicht größer sind als diejenigen von Zelle zu Zelle eines Fadens, vorausgesetzt, daß einheitliches Material gleicher Herkunft vorliegt.

In Tabelle IX sind die Ergebnisse für acht verschiedene Fäden angeführt:

Tabelle IX

Mittlere Gefrierpunktserniedrigung des Zellsaftes von acht verschiedenen Fäden von *Chaetomorpha linum*

Faden Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Probenanzahl	11	13	14	14	10	8	15	17
— $\Delta t^{\circ}\text{C}$	2,24	2,21	2,16	2,17	2,20	2,21	2,16	2,17

Die Berechnung der Durchschnittswerte ergibt

$$\begin{aligned}\Delta t_m &= -2,27 \pm 0,026^{\circ}\text{C} \\ p_T &= 16,0 \pm 0,314 \text{ Atm} \\ &= 16,0 \pm 2,0 \quad \%\end{aligned}$$

d) Material verschiedener Standorte

Die außerordentliche morphologische Variabilität der Meeresalgen, die ihren großen Formenreichtum mitbedingt und es — besonders bei Rotalgen — oft so außerordentlich schwierig macht, unter verschiedenen ökologischen Bedingungen aufgewachsene Vertreter ein und derselben Spezies als artverwandt zu erkennen und richtig zu bestimmen (SCHIFFNER 1939; LAKOWITZ 1929) ist als sinnfälliger Ausdruck der engen Wechselbeziehungen zwischen Alge und Umwelt seit langem bekannt. Da nun die Gestalt zugleich auch Ausdruck der inneren Organisation ist, liegt es nahe, von der morphologischen Verschiedenheit artgleicher Individuen auch auf Unterschiede in ihrem physiologischen Verhalten zu schließen.

Auch *Chaetomorpha linum* gehört — wie bereits erwähnt — zu den Arten, die trotz ihres einfachen Baues je nach den ökologischen Verhältnissen recht verschiedenen Habitus zeigen können. Es darf daher nicht wundernehmen, wenn man bei Material verschiedener Standorte oder aber auch nur bei solchem, das am gleichen Standort zu verschiedenen Jahreszeiten gesammelt wurde, deutliche Unterschiede der osmotischen Zellsaft-

Tabelle X

Turgorwerte frisch gesammelter *Chaetomorpha*-Fäden von verschiedenen Standorten

Datum	S ‰	$\Delta t^{\circ}\text{C}$	π_Z	π_A	p_T	Standort
16. 6. 1954 . .	14,3	—1,86	22,5	9,3	13,2	Schleimünde
1. 9. 1954 . .	29,7	—2,93	35,5	19,5	16,0	Sylt (List)
27. 9. 1954 . .	15,8	—1,95	23,6	10,3	13,3	Schleimünde
25. 11. 1954 . .	15,6	—2,33	28,0	10,2	17,8	Bottsand
30. 6. 1955 . .	15,6	—2,03	24,6	10,1	14,5	Schleimünde
25. 7. 1956 . .	17,9	—2,49	30,1	11,7	18,4	Fehmarn

Bedeutung der Symbole: S ‰ = Salzgehalt des Standortwassers

π_Z = osmotisches Potential des Zellsaftes in Atm

π_A = osmotisches Potential des Seewassers in Atm

p_T = Turgor

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 8)

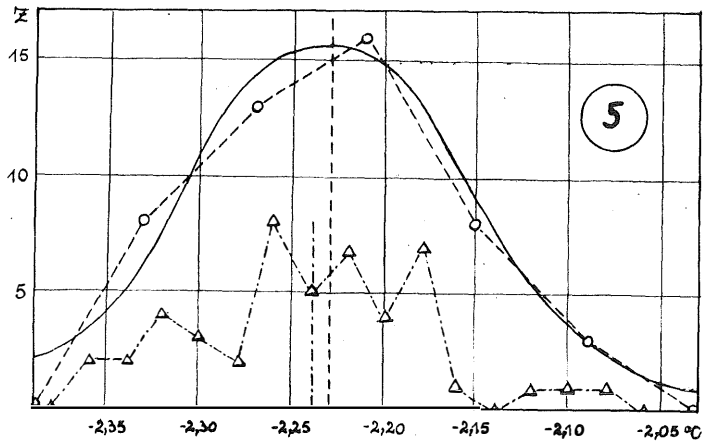
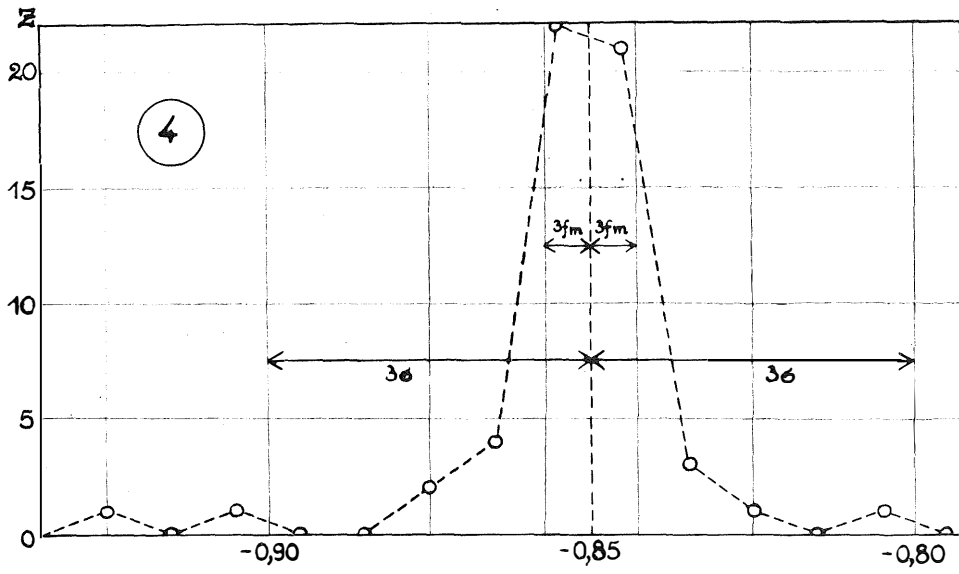
Abb. 4: Darstellung der Ergebnisse aus Tabelle IV: Häufigkeitsverteilung der an 56 Zellsaftproben aus einer *Bryopsis*-Pflanze bestimmten Gefrierpunktserniedrigung 2n.

Abb. 5: Darstellung der Ergebnisse aus Tabelle VIII: Häufigkeitsverteilung der Gefrierpunktserniedrigungen von Saftproben aus 48 Zellen eines *Chaetomorpha*-Fadens.

— — — — — Verteilung bei Wahl einer Klassenbreite von $0,02^{\circ}\text{C}$

— — — — — " " " " " " " " $0,06^{\circ}\text{C}$

— — — — — Normalverteilung



Tafel 8

potentiale bzw. Turgorwerte feststellt. Tabelle X gibt einen Begriff davon, mit wie großen Unterschieden man dabei zu rechnen hat. Es handelte sich bei diesen Untersuchungen mit Ausnahme des Sylter Materials, das von der Biologischen Anstalt List beschaffen worden war, um frisch gesammelte Pflanzen.

Mit dem Material von Sylt und vom Botsand wurden nur wenige Messungen durchgeführt. Die von Schleimünde bzw. Fehmarn stammenden Algen wurden dagegen in zahlreichen Experimenten eingehend untersucht und dabei immer festgestellt, daß trotz einer relativ großen Streuung der Werte in einzelnen Fällen — bei Schleimünder Material wurden z.B. gelegentlich Werte von 11 bzw. 18 Atm beobachtet — ein deutlicher Unterschied zwischen den Durchschnittsturgorwerten beider Pflanzengruppen bestand.

3. *Chara baltica*

Das Material für die folgenden Untersuchungen stammte aus dem großen Salzensee auf Fehmarn, wo die Pflanzen üppige Bestände bildeten. Für die mikrokryoskopischen Bestimmungen wurde nur Saft aus Internodienzellen von Lang- und Kurztrieben benutzt. Der wasserklare Zellsaft wurde nach dem Beispiel COLLANDERS (1936) durch Abschneiden des darüberliegenden Knotens und leichtes Ausdrücken des Internodiums gewonnen und unter Paraffinöl aufgefangen. Tabelle XI gibt die für sechs hintereinandergelagerte Internodialzellen eines Chara-Langtriebes ermittelten Werte wieder.

Tabelle XI

Gefrierpunktserniedrigungen des Saftes von sechs hintereinandergelagerten Internodialzellen eines Chara-Langtriebes nach dreiwöchiger Kultur in Ostseewasser von 15,4⁰/₁₀₀

Nr.	Z. 5	Z. 6	Z. 7	Z. 8	Z. 9	Z. 10
1	-1,270	-1,275	-1,570	-1,360	-1,310	-1,390
2	-1,275	-1,285	-1,580	-1,360	-1,315	-1,360
3	-1,280	-1,285	-1,580	-1,360	-1,310	-1,360
4	-1,280	-1,280	-1,580	-1,360	-1,310	-1,360
5	-1,255	-1,280	-1,585	-1,360	-1,310	-1,365
6	-1,275	-1,290	-1,585	-1,355	-1,315	-1,375
7	-1,255	-1,285	-1,585	-1,360	-1,315	-1,375
8	-1,255	-1,285	-1,570	-1,360	-1,315	-1,365
9	-1,280	-1,290	-1,570	-1,360	-1,315	-1,370
10	-1,265	-1,290	-1,595	-1,370	-1,315	-1,375
	12,690	12,845	15,800	13,605	13,130	13,685

Die korrigierten Mittelwerte der gemessenen Gefrierpunktserniedrigungen und der daraus berechnete Turgor der Zellen betragen:

Zelle 5: $\Delta tm = -1,355 \pm 0,010^{\circ}\text{C}$; $p_T = 6,40 \pm 0,12$ Atm

Zelle 6: $\Delta tm = -1,365 \pm 0,005^{\circ}\text{C}$; $p_T = 6,57 \pm 0,06$ Atm

Zelle 7: $\Delta tm = -1,66 \pm 0,007^{\circ}\text{C}$; $p_M = 10,10 \pm 0,085$ Atm

Zelle 8: $\Delta tm = -1,44 \pm 0,003^{\circ}\text{C}$; $p_T = 7,47 \pm 0,035$ Atm

Zelle 9: $\Delta tm = -1,395 \pm 0,003^{\circ}\text{C}$; $p_T = 6,93 \pm 0,035$ Atm

Zelle 10: $\Delta tm = -1,45 \pm 0,009^{\circ}\text{C}$; $p_T = 7,60 \pm 0,110$ Atm

Obleich die Gefrierpunktserniedrigung des Saftes der einzelnen Zellen mit einer Genauigkeit bestimmt werden kann, die sonst nur bei Mineralsalzlösungen zu erzielen

ist, sind die Unterschiede zwischen den Werten der einzelnen Zellen doch recht beachtlich. Vielleicht ist die Ursache in der etwas groben Kulturmethodik — die Algen lagen einfach in mit Seewasser gefüllten Schalen — zu suchen. Jedenfalls waren die Ergebnisse wesentlich einheitlicher, als Pflanzen verwendet wurden, die in einem Kulturaquarium mit Sandboden herangewachsen waren. In Tab. XII sind die Turgorwerte je einer Internodialzelle für fünf verschiedene Pflanzen einer solchen Kultur wiedergegeben. Bei Pflanze 3 handelt es sich um das 3. Internodium, bei den übrigen um die 2. Internodialzelle unterhalb der Spitzenknospe.

Tabelle XII

Gefrierpunktserniedrigung und Turgor von fünf verschiedenen Chara-Pflanzen aus einer Sandkultur

	1. Ind.	2. Ind.	3. Ind.	4. Ind.	5. Ind.
$\Delta t^{\circ}\text{C}$	—1,255	—1,265	—1,305	—1,275	—1,260
$P_T \text{ Atm}$	4,15	4,27	4,75	4,40	4,21

Bei Pflanzen aus Sandkulturen ergab auch die Bestimmung des osmotischen Zellsaftpotentials in verschiedenen Regionen eines Individuums ziemlich gleichmäßige Werte, wie aus Tab. XIII hervorgeht.

Tabelle XIII

Größe der osmotischen Potentiale von Zellen aus verschiedenen Regionen eines Individuums

a) Fünf Kurztriebe des ersten Wirtels

	1. Kztr.	2. Kztr.	3. Kztr.	4. Kztr.	5. Kztr.
$\Delta t^{\circ}\text{C}$	—1,280	—1,285	—1,155	—1,285	—1,295
$P_T \text{ Atm}$	4,45	4,50	2,95	4,50	4,65

b) Zweites Internodium mit vier Kurztrieben des zweiten Wirtels

	2. Itnd.	1. Kztr.	2. Kztr.	3. Kztr.	4. Kztr.
$\Delta t^{\circ}\text{C}$	—1,095	—1,245	—1,285	—1,295	—1,295
$P_T \text{ Atm}$	1,75	4,00	4,50	4,65	4,65

c) Drittes Internodium mit vier Kurztrieben des dritten Wirtels

	3. Itnd.	1. Kztr.	2. Kztr.	3. Kztr.	4. Kztr.
$\Delta t^{\circ}\text{C}$	—1,295	—1,285	—1,305	—1,285	—1,305
$P_T \text{ Atm}$	4,65	4,50	4,75	4,50	4,75

Eine Ursache für den niedrigen Wert des zweiten Internodiums konnte nicht gefunden werden.

Die mitgeteilten Meßergebnisse zeigen, daß die mikrokryoskopische Methode unter Berücksichtigung der besonderen Eigenschaften des Versuchsmaterials auch bei biolo-

gischen Objekten mit gutem Erfolg zur Messung osmotischer Potentiale kleiner Flüssigkeitsmengen eingesetzt werden kann. Leider ist die Zahl der für solche Untersuchungen geeigneten Objekte bei den Meeresalgen, wo die Mängel der herkömmlichen Bestimmungsmethoden besonders fühlbar sind, z. Z. noch sehr beschränkt.

Es ist jedoch zu hoffen, daß sich die Methode, die sich bei der Untersuchung der Turgorregulation von *Chaetomorpha linum* gut bewährt hat (vgl. KESSELER, 1957), auch auf großzellige Rotalgen — z. B. *Griffithia* — anwenden lassen wird, da bei dieser Pflanzengruppe die plasmolytische Bestimmung des osmotischen Potentials der Zellsäfte besonders großen Fehlerquellen ausgesetzt ist.

D. Zusammenfassung

1. Es wird ein besonders für biologische Untersuchungen geeignetes Mikrokryoskop beschrieben, mit dessen Hilfe die Gefrierpunktserniedrigung von Flüssigkeitsproben der Größenordnung 10^{-4} bis 10^{-3} mm³ in Einzel- oder Serienmessungen bestimmt werden kann.

2. Bei der Bestimmung der Leistungsfähigkeit der Methode ergab sich für verdünnte Kristalloidlösungen (Gefrierpunktserniedrigung 0,3 bis 1,2°C) ein relativer Fehler von $\pm 0,5\%$ bis $\pm 1,0\%$. Dieser Wert entspricht einer Thermometerablesgenauigkeit von $\pm 0,005^\circ\text{C}$ ($\Delta \pm 0,06$ Atm $\Delta \pm 0,0025$ mol [ideal]).

3. Es wird auf die besonders bei Lösungen biologischen Ursprungs zu beachtenden Fehlermöglichkeiten hingewiesen.

4. An drei ausgewählten Objekten, den Meeresalgen *Bryopsis plumosa*, *Chaetomorpha linum* und *Chara baltica* werden die Anwendungsmöglichkeiten der mikrokryoskopischen Methode auf biologische Objekte demonstriert.

Literaturverzeichnis

- BECKEROWA, Z., 1935: Über Zellsaft und Tonoplasten von *Bryopsis*. *Protoplasma* 23, 384—392.
- BUHMANN, A., 1935: Kritische Untersuchungen über vergleichende plasmolytische und kryoskopische Bestimmungen des osmotischen Wertes bei Pflanzen. *Protoplasma* 23, 579—612. — BÜNNING, E., 1934/35: Zellphysiologische Studien an Meeresalgen. *Protoplasma* 22, 444—456. — CAPPELLETTI, C., 1939: L'impiego dell'anidride carbonica solida (ghiaccio secco) nella semimicroscopia. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 46, 334—338. — COLLANDER, R., 1930: Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla*. I. Die normale Zusammensetzung des Zellsaftes. *Acta Bot. Fenn.* 3, 1—20. — COLLANDER, R., 1936: Der Zellsaft der Characeen. *Protoplasma* 25, 201—210. — DRUCKER, C. u. E. SCHREINER, 1913: Mikrokryoskopische Versuche. *Biol. Zentralbl.* 33, 99—103. — GRÖBER, H., 1926: Einführung in die Lehre von der Wärmeübertragung. Springer, Berlin. — HARGITAY, B., W. KUHN u. H. WIRZ, 1951: Eine mikrokryoskopische Methode für sehr kleine Lösungsmengen (0,1—1 μ). *Experientia*, (Basel) 7, 276—278. — HOFFMANN, C., 1932a: Zur Bestimmung des osmotischen Druckes an Meeresalgen. *Planta* (Berlin) 16, 413—432. — HOFFMANN, C., 1932b: Zur Frage der osmotischen Zustandsgrößen bei Meeresalgen. *Planta* (Berlin) 17, 805—809. — HOFFMANN, C., 1935: Zur Frage nach dem Vorkommen aktiver Saugkräfte bei den Meeresalgen. *Protoplasma* 24, 286—295. — KESSELER, H., 1957: Mikrokryoskopische Untersuchungen an Meeresalgen mit besonderer Berücksichtigung der Turgorregulationsvorgänge bei *Chaetomorpha linum*. Dissertation, Kiel. — KINNE, O., 1952: Ein neues Gerät zur Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung kleiner Flüssigkeitsmengen. *Veröff. d. Inst. f. Meeresforsch. Bremerhaven* 1, 47—51. — KOHLRAUSCH, 1947: *Praktische Physik*. — KOTTE, H., 1914: Turgor und Membranquellung bei Meeresalgen. *Wiss. Meeresunters. N. F. Abt. Kiel* 17, 119—167. — KUHN, W. u. H. MAJER, 1956: Normale und anomale Gefrierpunktserniedrigung. *Angew. Chem.* 68, 345—349. — KYLIN, H., 1938: Über den osmotischen Druck und die osmotische Resistenz einiger Meeresalgen. *Svensk Bot. Tidskrift*, Stockholm 32, 238—248. — LAKOWITZ, K., 1929: Die Algenflora der gesamten Ostsee. Danzig. — MOSEBACH, G., 1936: Kryoskopisch ermittelte osmotische Werte bei Meeresalgen. *Beitr. z. Biol. d. Pflz.* 24, 113—137. — MOSEBACH, G., 1940: Ein Mikroverfahren zur kryoskopischen Untersuchung saftreicher Gewebe. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 58, 29—40. — NETTER, H., 1951: *Biologische Physikochemie*. Akad. Verlagsges. Athenaion, Potsdam. — OLTMANN, F., 1922: *Morphologie und Biologie der Algen*. I. Fischer, Jena.
- PICHOTA, J. u. W. HÖFLER, 1954: Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Geweben. 2. Die Wasserbindung in pflanzlichem Gewebe. *Archiv f. expmtl. Pathol. u. Pharm.* 222, 264—273. — RAMSAY, J. A., 1949: A new method of freezing-point determination for small quantities. *Journ. Expmtl. Biol.* 26, 54—64. — SCHIFFNER, V., 1939: Untersuchungen über die Polysiphonien der Ostsee. *Österr. Bot. Ztschr.* 88, 218—222. — STADELMANN, E., 1956: Plasmolyse und Deplasmolyse. In *Handb. d. Pflanzenphys.* II, 71—115. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.