

<b>Zeitschrift:</b>	Botanica Helvetica
<b>Herausgeber:</b>	Schweizerische Botanische Gesellschaft
<b>Band:</b>	95 (1985)
<b>Heft:</b>	1
<b>Artikel:</b>	Entwicklung der Spaltöffnungen und der epicuticulären Wachsschicht bei Pinus cembra und Picea abies
<b>Autor:</b>	Günthardt, Madeleine S.
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-66495">https://doi.org/10.5169/seals-66495</a>

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 13.02.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Entwicklung der Spaltöffnungen und der epicuticulären Wachsschicht bei *Pinus cembra* und *Picea abies*

Madeleine S. Günthardt

Institut für Pflanzenbiologie, Universität Zürich, Zollikerstr. 107, CH-8008 Zürich, Schweiz

Manuscript accepted March 4, 1985

## Abstract

Günthardt, M. S. 1985. Stomata and epicuticular wax formation on needles of *Pinus cembra* and *Picea abies*. Bot. Helv. 95: 5–12.

The formation of stomata and epicuticular wax layer on needles of *Pinus cembra* and *Picea abies* before and during bud break was investigated by scanning electron microscopy. The formation of the guard cell mother cells and overarching subsidiary cells takes place when the buds elongate. First wax protrusions emerge from the cuticle on the rim of the subsidiary cells and cover the slightly sunken guard cell mother cells. The stomata are fully developed and covered by a wax layer before bud break. Wax secretions of different structure follow one another. A layer of fine interlaced wax tubes appears when the needle tips emerge. Crystallization of chromatographically isolated wax components showed the wax structure to vary with its composition.

## Einleitung

Wir beschäftigten uns mit altersbedingten Veränderungen von Wachsgehalt (Günthardt und Wanner 1982 a), Wachsstruktur, der chemischen Zusammensetzung des Wachses und der Oberflächenstruktur der Cuticula von ein Monat bis acht Jahre alten Nadeln von *Pinus cembra* L. und *Picea abies* (L.) Karsten (Günthardt und Wanner 1982 b, Günthardt 1984). Die vorliegende Arbeit soll mittels Rasterelektronenmikroskopie die Entwicklung der Spaltöffnungen und der Wachsschicht während des Aufbrechens der Knospen zeigen.

Die umfassendste Arbeit über die Ontogenie der Spaltöffnungen bei Nadeln mit Hilfe des Lichtmikroskopes wurde von Florin (1931) geleistet. Wir verwenden seine Terminologie. Untersuchungen zur Ultrastruktur der Cuticula, Spaltöffnungen und Wachsschicht in der ersten Vegetationsperiode wurden später an Nadeln von *Pinus nigra* (Campbell 1972) und *Abies balsamea* (Chabot und Chabot 1977) durchgeführt.

## Material und Methoden

Knospen südwestexponierter Äste von *Pinus cembra* L. und *Picea abies* (L.) Karsten wurden an Ort und Stelle in 2,5% Glutaraldehyd wöchentlich bis zum Stadium der ausgebreiteten Nadeln fixiert. An der Waldgrenze wurden Knospen von Bäumen auf der Luckschalp (Dischmatal, Davos, Schweiz), 2060 m ü. M. (*Pinus cembra*) resp. 2030 m ü. M. (*Picea abies*) vom 30. 6. 1980 bis 11. 8. 1980 gepflückt, im Botanischen Garten Zürich, 450 m ü. M. vom 25. 4. 1983 bis 25. 5. 1983.

Die Bäume an der Waldgrenze waren rund 80 Jahre alt, diejenigen aus dem Botanischen Garten 9 Jahre (*Pinus cembra*) resp. 80 Jahre (*Picea abies*). Die Knospen wurden im Vakuum mit dem Fixiermittel infiltriert und im Eisschrank aufbewahrt. Zur Rasterelektronenmikroskopie wurden die Knospen mehrmals in Phosphatpuffer (pH 7,2) gewässert und entweder gefriergetrocknet oder kritischpunktgetrocknet. Während der Entwässerung wurden die Nadeln in 70% Aceton aus ihren Knospenhüllen geschält, mit Dioxan eluiert und anschließend weiter entwässert. Nach erfolgter Kritischpunktetrocknung wurden die Präparate mit Gold/Palladium (80% Au, 20% Pd) ca. 15 nm dick beschichtet.

## Ergebnisse

Drei Monate alte und ältere Nadeln konnten wir durch Gefrier- oder Lufttrocknung für die Rasterelektronenmikroskopie konservieren. Bei schonender Gefriertrocknung bleibt die Struktur des epicuticulären Wachses erhalten. Jüngere Nadeln schrumpfen jedoch rasch. Sie mußten deshalb unmittelbar am Baum in 2,5% Glutaraldehyd fixiert werden, welches die Wachsstruktur nicht verändert. Zur Betrachtung der Wachsstruktur wurden die Nadeln anschließend gefriergetrocknet. Dabei mußten immer noch kleine Schrumpfungen in Kauf genommen werden. Mit der Kritischpunktetrocknung konnten Runzeln vermieden werden. Durch das Aceton wurde dann aber die Wachs-

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Nadeln von *Pinus cembra* und *Picea abies* an der Waldgrenze. – Scanning electron microscopy of needles of *Pinus cembra* and *Picea abies* from the timberline.

Abkürzungen: KPT = Kritischpunktetrocknung, GT = Gefriertrocknung, SMZ = Schließzellenmutterzelle, NaZ = Nachbarzellen, Strich in µm. – Abbreviations: CPD = critical point drying, FD = freeze drying, GMC = guard cell mother cell, SC = subsidiary cells, scale in µm.

Abb. 1: *Pinus cembra*, Nadelspitze im Stadium der runden Knospen, SMZn und Wachskristalle sind noch nicht gebildet (Pflückdatum 30. Juni/GT). – Fig. 1: *Pinus cembra* needletip in closed buds, still without GMCs and without wax (June 30/FD).

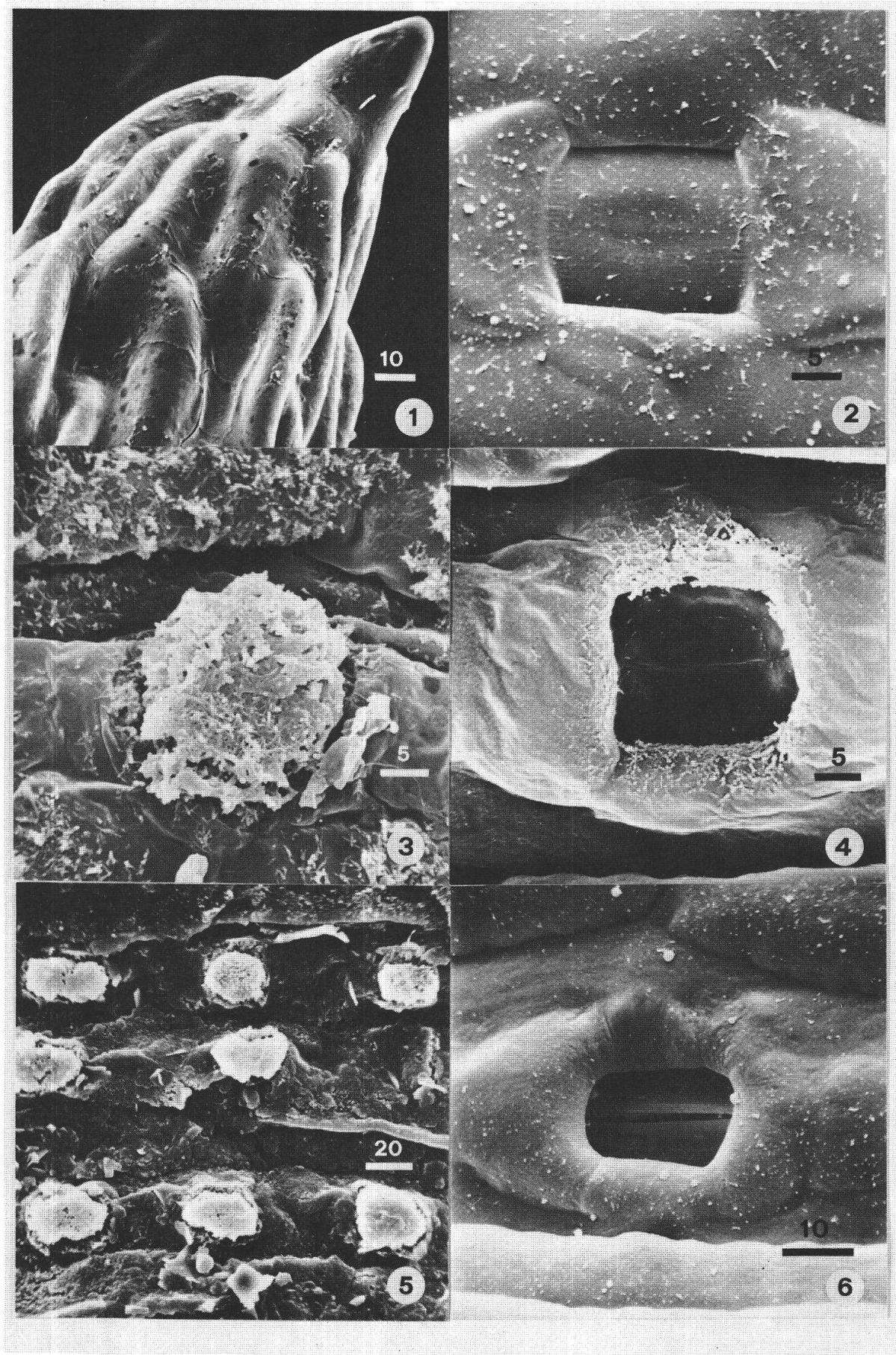
Abb. 2: SMZ und NaZ einer Nadel von *P. cembra* im späteren Knospenstadium (nach KPT verbleibende Wachskörnchen/Pflückdatum 21. Juli). – Fig. 2: GMC and SC on a needle of *P. cembra* in advanced bud stage (wax granules remaining after CPD/July 21).

Abb. 3: Wie Abb. 2, aber GT, erste Wachsröhrchen auf der Cuticula und Wachspfropfen über der SMZ. – Fig. 3: As in fig. 2, but FD, first wax protrusions on the cuticle and wax plug on the GMC.

Abb. 4: *P. cembra* Nadelbüschel noch von den Knospenhüllen umschlossen, aber von der Triebachse abgespreizt. SMZ an der Nadelspitze im Begriff, sich zu teilen und unter die NaZ zu sinken (nach KPT verbleibende Wachsreste/Pflückdatum 28. Juli). – Fig. 4: *P. cembra*, needle tufts still enclosed by bud scales but splaying. GMC at the needletip about to divide and to sink beneath the SC (wax granules remaining after CPD/July 28).

Abb. 5: Wie Abb. 4, aber GT, Wachsschicht. – Fig. 5: As in fig. 4, but FD, wax preserved.

Abb. 6: *P. cembra*, Spaltöffnung mit versenkten Schließzellen und die äußere Atemhöhle bildenden NaZ (Pflückdatum 4. August/KPT). – Fig. 6: *P. cembra*, stomata with sunken guard cells. Overarching SC form the outer stomatal cavity (August 4/CPD).



struktur verändert. Es blieb ein unregelmäßiger, unlöslicher, häutiger oder tröpfchenförmiger Belag zurück, auch wenn die Nadeln zur Entfernung des Wachsbelages zusätzlich mit Dioxan eluiert wurden (Abb. 2, 4, 6 und 10).

### 1. *Pinus cembra*

*Pinus cembra* besitzt Kurztriebe zu je 5 dreikantigen Nadeln, welche an den beiden sich berührenden Nadelseiten Spaltöffnungen tragen. Am 30. Juni an der Waldgrenze gepflückte Nadeln waren noch ganz in den rundlichen Knospen eingeschlossen. Sie besaßen dünnwandige Epidermiszellen ohne sichtbare Ansätze zur Ausbildung von Spaltöffnungen und ohne Wachsschicht (Abb. 1).

Am 21. Juli hatten sich die Knospen von *Pinus cembra* an der Waldgrenze zu einer länglichen Form gestreckt. Die Nadeln waren immer noch ganz von den Knosphenhüllen umschlossen, aber die Schließzellenmutterzellen und die polaren resp. lateralen Nachbarzellen waren inzwischen ausdifferenziert (Abb. 2). Bei Gefriertrocknung wurden in diesem Stadium erstmals Wachskristalle (ineinandergeschlungene Wachsfinger) sichtbar, welche aus der Cuticula hervorzutreten schienen und die Vertiefung über den Schließzellenmutterzellen bedeckten (Abb. 3).

Die Nadelbüschel waren auch am 28. Juli noch von den Knosphenhüllen eingeschlossen, hatten sich aber weiter gestreckt und von der Knospenachse abgehoben. Die Schließzellenmutterzellen waren im Begriff, sich zu teilen, und die Nachbarzellen hatten einen ringförmigen Wall um die nun versenkten Schließzellen gebildet (Abb. 4). Eine amorphe Wachsschicht überzog die Nadeln. Es bildete sich scheinbar unter der ersten, amorphen Wachsschicht eine neue Wachsausscheidung in Form feiner Röhrchen (Abb. 5).

Am 4. August ragten die Nadelbüschel zu einem Drittel aus den Knosphenhüllen hervor. Jetzt waren die Spaltöffnungen auch auf den noch in den Hüllen steckenden Nadelteilen fertig ausgebildet (Abb. 6). Die Wachsschicht bestand auf den beiden die Spaltöffnungen tragenden Innenseiten der dreikantigen Nadeln aus kristallinem Wachs, d. h. aus einem Netzwerk feiner Wachsröhrchen (Abb. 7).

Abb. 7: Wie Abb. 6, aber GT. Eine Wachsschicht in Form feiner Röhrchen bedeckt die Nadelseiten mit den Spaltöffnungen. – Fig. 7: As in fig. 6, but FD. A layer of fine interlaced wax tubes covers the rows of stomatal openings.

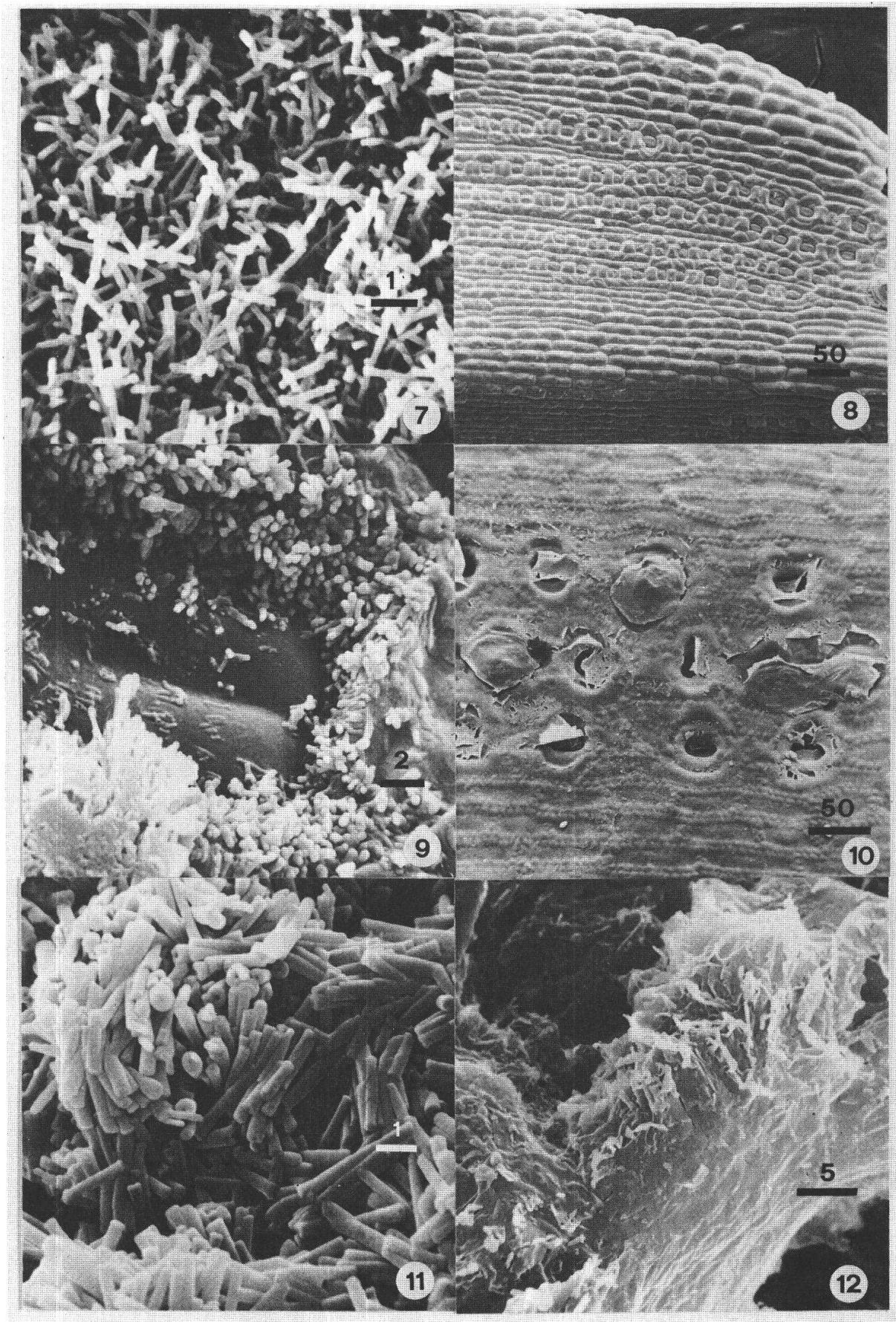
Abb. 8: *Picea abies*, Nadelspitze im Stadium der rundlichen Knospen, erste SMZn sichtbar (Pflückdatum 30. Juni/(KPT). – Fig. 8: *Picea abies*, needle tip in bud stage with GMCs (June 30/CPD).

Abb. 9: Wie Abb. 8, aber GT. Erste Wachsausscheidung entlang den NaZ um die noch ungeteilte SMZ. – Fig. 9: As in fig. 8, but FD, first wax protrusions on the rim of the SC.

Abb. 10: *P. abies*, Spaltöffnungsreihen und Strukturen der Cuticula (nach KPT verbleibender, häutiger Wachsbelag/Pflückdatum 11. August). – Fig. 10: *P. abies*, rows of stomatal openings and cuticular structures (wax film remaining after CPD/August 11).

Abb. 11: „Kristalle“ des sekundären Wachsalkohols 10-Nonacosanol. – Fig. 11: “Crystals” of the secondary alcohol nonacosan-10-ol.

Abb. 12: „Kristalle“ der C<sub>12</sub>-Fettsäure. – Fig. 12: “Crystals” of the C<sub>12</sub>-fatty acid.



## 2. *Picea abies*

*Picea abies* Nadeln sitzen einzeln an der Sproßachse, sind vierkantig und haben Spaltöffnungen in der Mitte aller Nadelseiten. Nadeln von *Picea abies* waren an der Waldgrenze in der Entwicklung weiter fortgeschritten als Nadeln von *Pinus cembra* zu denselben Pflückdaten. Das Gefälle der Differenzierung in basipetaler Richtung war bei *Picea abies* Nadeln ausgeprägter als bei *Pinus cembra*. Am 30. Juni wiesen die noch ganz in den rundlichen Knospen eingeschlossenen Nadeln von *Picea abies* bereits Schließzellenmutterzellen an der Nadelspitze auf (Abb. 8). Gleichzeitig traten auch die ersten Wachsfinger entlang den Nachbarzellen um den Spaltöffnungsvorhof hervor (Abb. 9). Die Nadelbasis besaß zu diesem Zeitpunkt weder Spaltöffnungen noch Wachs.

Am 21. Juli waren die Knospenspitzen aufgebrochen, und die Schließzellenmutterzellen begannen sich zu teilen. Das Wachs bildete in diesem Stadium stellenweise über den äußeren Atemhöhlen der Spaltöffnungen ein Netzwerk aus feinen Röhrchen, wie zwei Wochen später bei *Pinus cembra* (Abb. 7). Bei beiden Baumarten wurde röhrchenförmiges, kristallines Wachs ausgeschieden, zum Zeitpunkt, da die Nadeln aus den Knosphenhüllen herausbrachen. Die Wachsstrukturen waren auf *Picea abies* Nadeln allgemein gedrungener als auf *Pinus cembra* Nadeln. Der andersartigen chemischen Zusammensetzung des Wachses zufolge waren auch die nach der Kritischpunktetrocknung verbleibenden Spuren der Wachsschicht von *Picea abies* verschieden von *Pinus cembra*. Manchmal wurde bei Nadeln beider Baumarten in der ersten Vegetationsperiode „geschmolzenes“ Wachs beobachtet. Die spaltöffnungsfreien Nadelkanten (*Picea abies*) resp. die äußere Nadelseite (*Pinus cembra*) waren ebenfalls bei beiden Baumarten mit wenig strukturiertem, glattem Wachs überzogen.

Am 28. Juli waren die Nadeln von *Picea abies* ausgetrieben und frei von Knosphenhüllen. Die funktionstüchtigen Spaltöffnungen waren ganz von Wachs zugedeckt. Zwischen den Spaltöffnungsreihen zeigte die Cuticula unter der Wachsschicht ihre ersten charakteristischen Strukturen: Doppelwülste mit Buckeln. Zwei Wochen später waren sie noch deutlicher (Abb. 10). Die Cuticularwülste waren am Ende der ersten Vegetationsperiode am schönsten ausgebildet und verschwanden dann allmählich wieder.

Die Versuchsreihe wurde wiederholt mit Nadeln aus dem Botanischen Garten Zürich, gepflückt in denselben Entwicklungsstadien wie diejenigen der Waldgrenze. Auch bei den Nadeln aus Zürich fand noch im Knospenstadium die erste Wachsausscheidung am Rande der Nachbarzellen, in die äußere Atemhöhle hinein, statt. Unterschiede zu den Nadeln an der Waldgrenze waren nur im zeitlichen Ablauf festzustellen. Die Zürcher Nadeln trieben rund zwei Monate früher aus. Das Wachs in Form feiner Röhrchen stellte sich auch auf den Zürcher Nadeln ein, zum Zeitpunkt da die Nadelspitzen aus den Knospen ragten. Die Bildung röhrenförmiger Wachskomponenten scheint vom Licht angeregt zu werden.

Im Zuge der chemischen Wachsanalysen ließen wir die verschiedenen Stoffklassen des fraktionierten Wachses einzeln auskristallisieren (Lösungsmittel Chloroform). Der sekundäre Alkohol, 10-Nonacosanol ( $C_{29}H_{60}O$ ), war die einzige Komponente, welche in Form von Röhrchen auskristallisierte (Abb. 11). In Übereinstimmung mit der abnehmend röhrchenförmigen Struktur des Wachses nahm der Gehalt an 10-Nonacosanol im Wachs in den ersten Monaten nach dem Aufbrechen der Knospen ab, und zwar sowohl bei *Pinus cembra* als auch bei *Picea abies*. Isolierte Fettsäuren (z.B.  $C_{12}$ , Abb. 12) kristallisierten in amorpher Form aus. Die chemische Analyse bestätigte auch in diesem Falle die Strukturbeforschung: Das weniger kristalline Wachs von *Picea abies* enthielt mehr freie Fettsäuren als das Wachs von *Pinus cembra*.

## Diskussion

Florin (1931) schrieb: „Die Spaltöffnungsapparate der Folgenadeln von *Abies pinsapo* Boiss. werden schon im Knospenstadium angelegt“. Die vorliegende Arbeit ergänzt, daß nicht nur die Spaltöffnungen, sondern gleichzeitig auch die Wachsschichten entstehen, während die Nadeln noch in den Knospenhüllen eingeschlossen sind. Die Wachsschicht nimmt in ihrer Ontogenie verschiedene Strukturen an, entsprechend ihrer wechselnden chemischen Zusammensetzung, welche wiederum von den Enzymaktivitäten im Verlaufe der Entwicklung abhängt. Die erste Wachsschicht ist also kein Produkt aus der eigenen Photosynthese der Nadel. Der Aufbau des Wachses geht vielmehr parallel mit der Bildung der Cuticula. Das Wachs wird zuerst am Rande des Spaltöffnungsvorhofes auf der Innenseite der Nachbarzellen gebildet und schützt so schon die Schließzellenmutterzellen vor dem Entstehen der Schließzellen. Chabot und Chabot (1977) kamen bei der Untersuchung von Schnitten durch junge Nadeln von *Abies balsamea* mittels Transmissionselektronenmikroskopie zum selben Schluß, daß sehr wahrscheinlich die Nachbarzellen und weniger ausgeprägt später die Schließzellen für die Synthese von Cutin und Wachs verantwortlich sind. Diese Zellen enthielten elektro-nendiches Zytoskelet mit stark entwickeltem endoplasmatischem Reticulum sowie Peroxidaseaktivitäten in Zellwand, Plasmamembran und endoplasmatischem Reticulum. Die Peroxidaseaktivitäten wurden in Zusammenhang mit der Synthese von Zellwandmaterial und Wachsaufbau gebracht.

Wachsschicht und Cuticula erreichen an der Waldgrenze in der kurzen ersten Vegetationsperiode nicht ihre erforderliche Größe, so daß der Verdunstungsschutz noch ungenügend ist. Sie werden erst in den folgenden Jahren weiter verdickt. Diese Tatsache trägt viel zum Bestehen der Waldgrenze bei (vgl. Baig und Tranquillini 1976, Günthardt und Wanner 1982 a, Günthardt 1984).

## Zusammenfassung

Die Entwicklung der Spaltöffnungen und der epicuticulären Wachsschicht vom Stadium in geschlossenen, rundlichen Knospen bis zum Stadium ausgebreiteter Nadeln wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie bei *Pinus cembra* und *Picea abies* beobachtet. Zum Zeitpunkt, da sich die Knospen zu einer länglichen Form zu strecken beginnen, werden die Schließzellenmutterzellen und die Nachbarzellen auf den Nadeln ausdifferenziert. Erste Wachskristalle treten entlang den Nachbarzellen aus der Cuticula hervor und bedecken die nun leicht vertieften Schließzellenmutterzellen. Die Spaltöffnungen sind fertig ausgebildet und von der ersten Wachsschicht bedeckt, bevor sich die Knospenhüllen öffnen. Wachsausscheidungen mit verschiedenen Strukturen folgen einander. Wachs in Form feiner, vernetzter Röhrchen tritt auf, wenn die Knospenhüllen aufbrechen. Das Auskristallisieren chromatographisch getrennter Wachskomponenten zeigt, daß die Struktur von der chemischen Zusammensetzung abhängig ist.

## Résumé

Formation du complexe stomatique et de la cire des aiguilles de *Pinus cembra* et *Picea abies*.

La formation du complexe stomatique et de la cire des aiguilles a été observée par microscopie électronique à balayage. Les cellules mères des cellules stomatiques et des

cellules annexes se forment au moment où les bourgeons commencent à s'allonger. Les futures cellules stomatiques se retrouvent sous la surface de l'aiguille et elles sont recouvertes par les premiers cristaux de cire émergeants de la cuticule des cellules annexes. Les cellules stomatiques sont formées et couvertes d'une couche de cire avant que les aiguilles émergent des bourgeons écaillés. Plusieurs couches de cire de différentes structures se superposent. Une chouche de cire cristalline (dont la structure ressemble à de fins tubes entrelacés), est produite juste avant l'émergence des aiguilles. La cristallisation des multiples fractions de la cire montre, que les différentes structures de cette dernière dépendent de leur composition chimique.

Herrn U. Jauch danke ich für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen und Herrn Dr. R. Häslер (Eidgenössische Anstalt für das forstliche Versuchswesen, Birmensdorf) für die Nadeln von der Waldgrenze.

## Literatur

- Baig M. N. and Tranquillini W. 1976. Studies on upper timberline morphology and anatomy of Norway spruce *Picea abies* and stone pine *Pinus cembra* needles from various habitat conditions. Can.J. Bot 54: 1622–1632.
- Chabot J. F. and Chabot B. F. 1977. Ultrastructure of the epidermis and stomatal complex of balsam fir (*Abies balsamea*). Can. J. Bot. 55: 1064–1075.
- Campbell R. 1972. Electron microscopy of the epidermis and cuticle of the needles of *Pinus maritima* in relation to infection by *Lophodermella sulcigena*. Ann. Bot. 36: 307–314.
- Florin R. 1931. Untersuchungen zur Stammesgeschichte der Coniferales und Cordaitales. Kungl. sv. vet. akad. handl. 10 (1), pp. 53–60, 102–103.
- Günthardt M. S. und Wanner H. 1982 a. Die Menge des cuticulären Wachses auf Nadeln von *Pinus cembra* L. und *Picea abies* (L.) Karsten in Abhängigkeit von Nadelalter und Standort. Flora 172: 125–137.
- Günthardt M. S. und Wanner H. 1982 b. Veränderungen der Spaltöffnungen und der Wachsstruktur mit zunehmendem Nadelalter bei *Pinus cembra* L. und *Picea abies* (L.) Karsten an der Waldgrenze. Bot. Helv. 92: 47–60.
- Günthardt M. S. 1984. Epicuticular wax of *Picea abies* needles. In: Siegenthaler P.-A. and Eichenberger W. (eds.): Structure, Function and Metabolism of Plant Lipids. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 499–502.