

PERMEABILITÄTSUNTERSCHIEDE IN VERSCHIEDENEN GEWEBEN EINER PFLANZE

UND IHRE VERMUTLICHEN CHEMISCHEN URSACHEN.

Von

KARL HÖFLER.

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.

(Eingelangt am 4. November 1936.)

I. Einleitung.

Das lebende Zytoplasma bietet direkter mikrochemischer Untersuchung die größten Schwierigkeiten, denn chemische Eingriffe töten es in den allermeisten Fällen, zerstören seine Struktur und damit meist auch den natürlichen Chemismus. Gewisse physikalisch-chemische Eigenschaften des Plasmas lassen sich hingegen mit mildereren, das Leben nicht gefährdenden Methoden studieren. Als in den letzten Jahren die vergleichende Protoplasmaforschung in den Vordergrund trat, da waren es besonders diese der Lebenduntersuchung zugänglichen Charaktere des Plasmas wie Viskosität, Haftvermögen, Quellbarkeit, Permeabilität, die zur Erfassung der Unterschiede verschiedener Plasmasorten sich als geeignet erwiesen.

Am meisten hat aber in dieser Richtung bisher wohl das Studium der Permeabilitätseigenschaften geleistet. Unser Erfahrungsschatz hat sich hier rasch gemehrt (COLLANDER 1933, HÖFLER 1932, 1934 a, b, MODER 1932, HURCH 1933, HOFMEISTER 1935, WAHRY 1936, MARKLUND 1936); wir kennen unterscheidende Züge im Permeabilitätsverhalten verschiedener Zell- und Plasmasorten heute schon in großer Zahl.

Da drängt sich denn die Frage auf, ob und wie weit solchen Unterschieden auch faßbare chemische Differenzen der verglichenen

Plasmen entsprechen. Geht auch die Protoplasmaforschung in methodischer Hinsicht heute vielfach ihren eigenen Weg, so muß doch die Zeit kommen, wo sie die Verbindung zur Wissenschaft vom Chemismus des Lebenssubstrates wieder suchen darf. Den Mikrochemiker darauf hinzuweisen, wo eine solche Brücke sich vielleicht heute schon schlagen läßt, ist der Zweck der folgenden, dem großen Meister mikrochemischer Zellforschung gewidmeten Blätter.

* * *

Vor längerer Zeit schon wurde gezeigt, daß in verschiedenen Geweben der Pflanze die Durchlässigkeit des Plasmas für den Harnstoff in kennzeichnender Weise verschieden ist (HÖFLER und STIEGLER 1921, 1930). Im Stengel vieler krautiger Pflanzen lassen die roten, Anthokyan führenden Epidermiszellen den Harnstoff viel leichter durchs Plasma treten als die Zellen des angrenzenden farblosen Parenchyms: In diesen geht die Plasmolyse in molarer Lösung in einer halben oder einer Stunde zurück, in jenen schon binnen wenigen Minuten. Bei *Gentiana Sturmi*ana ist beispielsweise die Permeabilität der Stengelhaulzellen 5—10mal größer als die der angrenzenden Grundgewebsschicht. Schon aus dieser Beobachtung ließ sich der Schluß ziehen, daß die Größe der (Harnstoff-)Permeabilität kein durchgreifendes protoplasmatisches Merkmal der Spezies darstellt (l. c., 1921, S. 164). — Weiterhin wurde die Permeabilitätsverteilung in verschiedenen, plasmometrisch verwendbaren Gewebszellen von *Gentiana* ausführlich und kritisch geprüft. Wurde den Zellen molare Harnstofflösung geboten, so ergaben sich im Mittel folgende Stundenwerte für die Stoffaufnahme der verglichenen Zellen (l. c. 1930):

*Gentiana Sturmi*ana:

Stengel, rote Epidermis	M = 1,5 bis 6,0 mol
„ subepidermale Rindenschicht	M = 0,25 mol
Blatt, Epidermis der Unterseite	0,48 mol
Wurzel, Epidermis	0,50 mol
Blüte, Korollröhre, Außenschicht	0,089 mol
Blüte, Korollröhre, Innenschicht	0,107 mol

Am leichtesten durchlässig für den Harnstoff ist das Plasma

der roten Stengelepidermiszellen, am langsamsten durchlässig das der ebenfalls lilaroten Zellen der Korolle.

Eine umfassende Versuchsreihe, worin Zellen verschiedener Spezies aus allen Gruppen des Pflanzenreiches auf ihre Harnstoffdurchlässigkeit plasmometrisch geprüft wurden, hatte ergeben, daß die Permeabilität bei verschiedenen Zellsorten von ganz verschiedener Größe ist und im Verhältnis von 1 zu 1000 variiert. Beim selben Objekt erscheint sie meist beständig in mäßig weiten Grenzen, die in einer Größenordnung bleiben. — Ähnliches wie für artfremde Zellsorten gilt, wie die angeführten Versuche zeigen, auch für verschieden geartete Zellelemente ein und derselben Pflanze. Die Größe der Harnstoffpermeabilität ist kein durchgreifendes Merkmal des genetisch einheitlichen Plasmas der Spezies, doch sie ist typisch für die einzelnen morphologischen Zellsorten (l. c., 1930). Daß es dabei nicht allein auf die entwicklungsgeschichtliche Zugehörigkeit der Zellen zu einem Gewebsystem ankommt, hat dann WEBER (1930) gezeigt: Die zum Hautgewebe gehörigen Schließzellen besitzen oft eine viel höhere Permeabilität als die gewöhnlichen Epidermiszellen. — Und selbst morphologisch gleiche Zellen können sich in der Permeabilität wie in anderen Zügen noch wesentlich unterscheiden, können verschiedene „Zellsorten“ im protoplasmatischen Sinne sein; das haben WEBER und ihm folgend MODER, MEINDL, GAHLEN u. a. am Beispiel des Elodeablattes dargestellt.

In den jüngsten Jahren hat sich das Studium der spezifischen Permeabilitätsreihen als besonders fruchtbar erwiesen, d. h. der quantitativen Vergleichsreihen von Permeationskonstanten ein und desselben Plasmas für verschiedene gelöste Stoffe. Diese Reihen sind bei verschiedenen Plasmasorten spezifisch verschieden. Es gibt nicht schlechthin hoch oder niedrig permeable Plasmen, wie man früher meinte.

So sind die Stengelhautzellen von *Gentiana*, in die der Harnstoff so rapid permeiert, für Zucker oder KNO_3 nicht leichter durchlässig als andere Zelltypen. Das Glycerin permeiert bei ihnen viel langsamer als der Harnstoff. Die klassischen „Indikatorzellen“ von *Rhoeo discolor* (DE VRIES) sind dagegen für Glycerin 4–5mal rascher durchlässig als für Harnstoff („Glycerin-“ und „Harnstofftypus“ der Permeabilität).

Die Permeabilitätsreihe der Stengelepidermis ist schon 1933 bearbeitet und die best faßbaren Werte sind in vorläufiger Form (1934 a, S. 362) bereits mitgeteilt worden (vgl. unten S. 234). Als bald nachher HOFMEISTER auf breiter Grundlage den endgültigen Beweis für die Spezifität der Perm.-Reihen verschiedener, artungleicher Zellsorten erbrachte, da drängte sich von neuem die Frage auf, ob wohl die Gewebe derselben Pflanze, außer in der absoluten Größe der Durchlässigkeit, auch in den spezifischen Reihen sich kennzeichnend unterscheiden.

Die Wahl des Objektes fiel nicht schwer. Mit den für den Harnstoff höchst durchlässigen Stengelhautzellen waren an *Gentiana Sturmi* (KERN.) die niederst durchlässigen Korollzellen zu vergleichen.

II. Versuche.

Die folgenden Messungen wurden im September 1934 in der Ramsau bei Schladming an frischen, günstigsten Freilandpflanzen durchgeführt.

Die Methode der Permeabilitätsbestimmung war die plasmometrische. Ausführliche Darstellungen dieser Methode liegen mehrfach vor (HÖFLER 1918, 1934 b, HOFMEISTER 1935, STRUGGER 1935). Hier sei für die Leser dieser Zeitschrift nur das Wichtigste wiederholt.

Ist eine Zelle in hypertonischer Lösung von bekannter Konz. C plasmolytisch, so kann man aus dem Volumverhältnis des Protoplasten V_p und des Zellhohlraumes V_z den osmotischen Wert O der Zelle bestimmen nach der Gl. . . . $O = \frac{V_p}{V_z} \cdot C$. Ist dies Volumverhältnis (der „Plasmolysegrad“) z. B. in

1,0 mol Rohrzuckerlösung $\frac{V_p}{V_z} = G = \frac{1}{2}$, so ist der osmot. Wert

$O = C \cdot G = 0,50$ mol Rohrz. Für zylindrische Zellen berechnet sich der Plasmolysegrad (nach erfolgter Protoplastenrundung) nach $G = \frac{1 - \frac{b}{h}}{3}$ (Abb. 1), wo l die Länge, b die Breite des Protoplasten, h die Innenlänge der Zelle ist.

Bringt man die Zelle in eine durchs Plasma permeierende Substanz, so tritt bei Hypertonie Plasmolyse ein und nachher dehnt sich der Protoplast wieder langsam aus. Man mißt während der Rückdehnung die Protoplastenlängen l_1, l_2, \dots und berechnet daraus die Plasmolysegrade G_1, G_2, \dots und ihre Differenz. ΔG ist die Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde. -- Die osmotische Wertzunahme $O_2 - O_1 = C (G_2 - G_1)$ läßt die Menge des eingedrungenen Plasmolytikum erschließen.

Die Stundenaufnahme $M = C \cdot \Delta G$. — Die „Permeationskonstante“ (COLLANDER) wäre $P' = \frac{M}{C-c}$, wobei c die jeweilige Konzentration des Osmotikums im Zellsaft bedeutet. Da c nur indirekt erschlossen werden kann und die Extrapolation noch vielfach auf Schwierigkeiten stößt, begnügen wir uns im folgenden damit, die direkt gemessenen Werte $\Delta G = \frac{M}{C}$ als Näherungswerte für P' zu verwenden, was für den Zweck unserer vergleichenden Studie ausreicht.

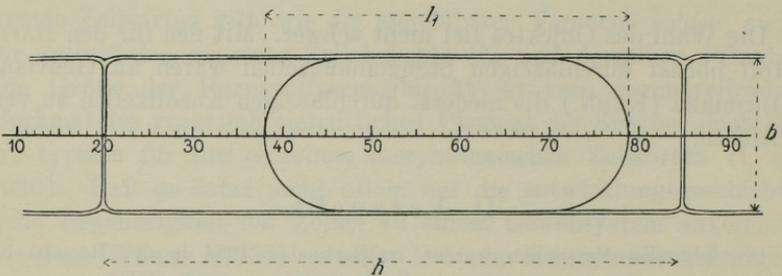


Fig. 1. Messung des Plasmolysegrades.

Ich teile als Beleg eine Auswahl von Versuchen mit. Die Herstellung der Korollpräparate geschah wie früher (HÖFLER und STIEGLER 1930, S. 497). Aus jeder Blüte gewinnt man fünf Präparate, die unter sich streng vergleichbar sind. In der ersten folgenden Versuchsreihe wurden fünf solche Schwesterpräparate in Harnstoff, Methylharnstoff, Dimethylharnstoff, Glycerin und Erythrit untersucht.

Die mikrometrischen Messungen erfolgen rasch und auf 0,2 bis 0,1 Teilstrich genau; man diktiert die Zahlen einem zweiten, wohl eingübten Protokollführer. — In den Tabellen ist b die Zellbreite in Mikrometerstrichen ($1' = 3,79 \mu$), h die Zelllänge, $l_1, l_2 \dots$ die Protoplastenlängen bei der 1., 2. . . Messung, $G_1, G_2 \dots$ die jeweiligen Plasmolysegrade.

$l_2 - l_1$ ist die Längenänderung der Einzelprotoplasten, $G_2 - G_1$ die Änderung des Plasmolysegrades und ΔG_{1-2} , die als Permeabilitätsmaß verwendete Plasmolysegradänderung pro Stunde.

*Gentiana Sturmi*ana, äußere Zellschicht der Korollröhren.

1,0 mol Harnstoff.

Ramsau, 18. IX. 1934.

Präparat zuerst 80 Min. gewässert, dann um 12^h 51 in die Lösung gebracht;
12 Zellen gemessen. — $t = 19\frac{1}{2}^{\circ}$ C.

	1. Messung 14 ^h 28—34			2. Messung 14 ^h 49—55		3. Messung 15 ^h 10—15	
	b	$l_1 : b$	G_1	$l_2 - l_1$	$G_2 - G_1$	$l_3 - l_2$	$G_3 - G_2$
1	6,5	37,0 : 42,0	0,829	1,6	0,038		
2	6,5	38,6 : 43,0	0,847	1,7	0,039	1,8	0,042
3	6,0	28,0 : 30,3	0,858	1,1	0,037	1,1	0,036
4	6,6	34,5 : 39,5	0,818	1,7	0,043	1,3	0,033
5	7,2	27,7 : 29,0	0,873	0,9	0,031	Grenzpl.	
6	6,9	82,2 : 35,5	0,843	1,5	0,042	1,5	0,042
7	7,2	22,2 : 23,5	0,843	0,8	0,034	0,4	0,017
8	6,0	33,7 : 36,0	0,881	1,4	0,039	1,0	0,028
9	6,0	36,2 : 41,0	0,834	1,8	0,044	1,6	0,039
10	5,5	32,6 : 35,5	0,868	1,6	0,045	1,5	0,042
11	6,0	45,3 : 51,5	0,841	2,2	0,043	2,2	0,043
12	5,1	42,8 : 46,5	0,884	2,1	0,045	1,4	0,300
			Mittel 0,040			Mittel 0,035	
		(pro Stunde)	$\Delta G_{1-2} = 0,116$			$\Delta G_{2-3} = 0,100$	

1,0 mol Methylharnstoff.

Ramsau, 18. IX. 1934.

Schwesterschnitt, 12^h 51³/₄' in die Lösung; die Rundung der Protoplaste erfolgt rascher. 1. Messung 13^h 11' 0"—13^h 12' 10", 2. Messung 13^h 13' 0"—14' 10", 3. Messung 13^h 15' 0"—16' 10", 4. Messung 13^h 18' 0"—19' 10", 5. Messung 13^h 21' 0"—22' 10", 6. Messung 13^h 24' 0"—25' 10", 7. Messung 13^h 27' 0" bis 28' 10". — Zeit der Messung der Einzelprotoplaste auf Sekunden genau eingehalten.

	$l_1 : h$	G_1	$G_2 - G_1$	$G_3 - G_2$	$G_4 - G_3$	$G_5 - G_4$	$G_6 - G_5$	$G_7 - G_6$
1	43,2 : 39,5	0,803	0,012	0,013	0,018	0,015	0,023	0,012
2	23,3 : 25,0	0,840	0,020	0,008	0,032	0,016	Gr. ¹	
3	33,1 : 36,0	0,853	0,008	0,011	0,012	0,014	0,024	0,017
4	38,2 : 45,0	0,796	0,004	0,0	0,007	0,013	0,018	0,020
5	45,8 : 50,0	0,876	0,0	0,006	0,008	0,012	0,008	0,016
	Stundenwerte	$\Delta G:$	0,264	0,228	0,300	0,280	0,365	0,325

In H a r n s t o f f erfolgt die Rückdehnung und Permeation in den Korollzellen langsam, ganz wie in den älteren Versuchen (HÖFLER und STIEGLER 1930, S. 496 f.). Alle anderen Substanzen wurden an der Korolle 1934 zum erstenmal geprüft.

¹ Grenzpl., Gr. = Grenzplasmolyse (schwache, nicht mehr meßbare Plasmolyse).

Der Methylharnstoff dringt durchs Plasma der Blü-
tenzellen wesentlich schneller als seine Stammsubstanz, der Harn-
stoff, ein, so wie es schon OVERTON beobachtet hat und wie es für
die allermeisten Tier- und Pflanzenzellen die Regel ist. Für die
Stengelhautzellen von *Gentiana Sturmi*ana liegt das Verhältnis
von Harnstoff und Methylharnstoff umgekehrt (s. unten). Das
gegensätzliche Verhalten von Stengel- und Blü-
tenzellen hatte ich 1934 in vorangegangenen Versuchen kennen gelernt. Mit Span-
nung sah ich nun dem Ausfall der Glycerinversuche entgegen.
Tatsächlich brachte das Verhalten der Korollzellen im Glycerin
eine Überraschung.

ca. 0,9 mol Glycerin.

Ramsau, 18. IX. 1934.

Präparat um 13^h 41½ in die Lösung. — $t = 19\frac{1}{2}^{\circ}$ C.

	1. Messung		2. Messung		3. Messung	
	14 ^h 5' 30" — 8' 0"		14 ^h 10' 30" — 13' 0"		14 ^h 15½' — 18'	
b	l_1 : h	G_1	$l_2 - l_1$	$G_2 - G_1$	G_3	$G - G_3$
1	5,8	33,6 : 38,0	0,834	2,1	0,064	Grenzpl. ca. 0,072
2	6,5	34,8 : 36,0	0,906	1,2	0,033	schw. Gr. 0,051
3	6,8	25,0 : 26,5	0,857	2,5	0,094	„ 0,039
4	7,5	31,8 : 34,5	0,850	3,1	0,060	ca. 0,93 0,028
5	6,5	22,6 : 24,5	0,841	1,8	0,065	Grenzpl. 0,065
6	6,0	42,1 : 47,0	0,853	3,1	0,066	schw. Gr. 0,071
				Mittel	0,620	Mittel 0,053
			(pro Stunde)	$\Delta G_{1-2} = 0,744$		$\Delta G_{2-3} = 0,636$

Nur die Messungen des ersten Intervalls geben hier genaue Werte, nach dem zweiten ist die Plasmolyse schon nahezu zurückgegangen.

Das Glycerin permeiert in die Korollprotoplasten ganz unerwartet rasch, mehrmals rascher als der Harnstoff. Die Blü-
tenzellen verhalten sich gerade umgekehrt wie die Stengelhautzellen.
Sie stellen einen ausgesprochenen Glycerintypus dar. Die
Überlegenheit des Glycerins gegenüber dem Harnstoff ist in unse-
rem Versuch sogar noch größer, als sie bei *Rhoeo*, dem klassischen
Vertreter des Glycerintypus, gefunden wurde.

Die folgenden Versuche zeigen die Permeationsgeschwindigkeit
der langsam eindringenden Diosmotika Erythrit und Malonamid.
Das im Malonamid untersuchte Korollpräparat entstammte einer
zweiten Blüte derselben Pflanze.

0,7 mol Erythrit.

Ramsau, 18. IX. 1934.

Präparat um 13^h 42 in die Lösung.

		1. Messung		2. Messung	
		16 ^h 26		17 ^h 40	
1	7,5	33,2 : 36,0	0,930	1,3	0,040
2	6,0	49,7 : 59,5	0,802	1,9	0,032
3	6,6	36,1 : 41,0	0,827	0,2	(-0,005)
4	6,5	33,8 : 37,5	0,843	2,4	0,064
5	7,5	29,8 : 32,5	0,841	2,2	0,067
6	6,0	33,9 : 39,0	0,818	2,3	0,059
7	6,5	29,9 : 33,0	0,840	2,3	0,066
8	6,0	30,0 : 34,0	0,824	1,1	0,033
9	4,8	29,2 : 33,0	0,837	1,6	0,049
10	5,0	29,5 : 34,0	0,818	2,8	0,082

(ohne Zelle 3) Mittel 0,055
(pro Stunde) $\Delta G_{1-2} = 0,0448$

0,8 mol Malonamid.

Ramsau, 18. IX. 1934.

Präparat um 16^h 18 in die Lösung. $t = 18^{\circ} \text{C}$.

		1. Messung		2. Messung	
		18 ^h 46—55		20 ^h 56—21 ^h 05	
1	6,0	21,8 : 29,6	0,668	2,9	0,99
2	6,0	21,7 : 26,3	0,749	3,4	0,130
3	5,2	19,0 : 25,0	0,692	2,7	0,108
4	5,0	20,1 : 27,0	0,682	1,7	0,062
5	6,5	21,3 : 27,5	0,695	1,6	0,058
6	6,5	22,6 : 28,5	0,716	3,3	0,116
7	6,7	31,4 : 37,0	0,790	4,1	0,110
8	6,0	31,5 : 38,4	0,769	5,6	0,145

(in 130 Min.) Mittel 0,1035
(pro Stunde) $\Delta G_{1-2} = 0,0478$

In der folgenden Versuchsreihe wird das Permeiervermögen des Harnstoffs und Methylharnstoffs mit demjenigen von Erythrit, Rohrzucker, Fruchtzucker und Mannit verglichen. — Ich teile aus Raumgründen nur die Plasmolysegrade $G_1, G_2 \dots$ und die ΔG -Werte mit.

1,0 mol Harnstoff.

Ramsau, 20. IX. 1934.

1 Stunde gewässert, Präparat in die Lösung 12^h 53, 1. Messung 14^h 37¹/₂—45, 2. Messung 15^h 37¹/₂—46. — $t = 13\frac{1}{2}$ —14^o C. 10 Zellen gemessen.

$G_1 =$	0,876	0,881	0,889	0,852	0,860	0,900	0,891	0,888	0,874	0,844
$G_2 =$	0,943	0,944	0,959	0,920	0,924	0,960	0,949	0,946	0,947	0,927
$G_2 - G_1 =$	0,057	0,063	0,070	0,068	0,064	0,060	0,058	0,058	0,073	0,083
	$\Delta G_{1-2} = 0,0654$									

1,5 mol Methylharnstoff: $\Delta G = 0,106$. — In Glycerin rasche Rückdehnung.

0,8 mol Erythrit.

Ramsau, 20. IX. 1934.

75 Min. gewässert, in die Lösung 14^h 05, 1. Messung 15^h 19—25, 2. Messung 16^h 52—57, 3. Messung 23^h 03 f.

$G_1 = 0,794$	impf.	0,828	0,872	0,813	0,816	0,788	0,892
$G_2 = 0,804$	0,869	0,853	0,925	0,807	0,830	0,800	0,886
$G_3 = 0,902$	0,933	gr.	gr.	0,876	0,968	0,890	0,963
$\Delta G_{1-2} = 0,0147$				$\Delta G_{1-2} = 0,0144$			

0,8 mol Rohrzucker.

20.—22. IX. 1934.

Präparat in die Lösung 20. IX. 15^h 30, 1. Messung 19^h 27—39, 2. Messung 21^h 13—22, 3. Messung 21. IX. 8^h 0—10, 4. Messung 21. IX. 21^h, 5. Messung 22. IX. 12^h 56.

$G_1 = 0,563$	0,523	0,586	0,564	0,628	0,627	0,593	0,532	0,557	0,604
$G_2 = 0,553$	0,529	0,583	0,564	0,619	0,600	0,570	0,572	0,560	0,593
$G_3 = 0,546$	0,538	0,583	0,564		0,584				
$G_4 = 0,594$	0,557	0,614	0,604	0,632	0,584	0,589	0,542	0,586	0,751
$G_5 = 0,642$	0,569	0,654	0,634	0,654					

Am ersten Abend verkleinern sich die Protoplasten noch ein wenig (störende Exosmose von Zellsaftstoffen, die hier der Größenordnung nach sich geltend macht), weiter ganz langsame Rückdehnung. Ähnliche Zuckerversuche mit Stengelzellschleimzellen sind ausführlich mitgeteilt bei HÖFLER 1926.

$$\Delta G_{3-4} = 0,00265, \quad \Delta G_{4-5} = 0,00191$$

0,8 mol Fruktose: am zweiten Versuchstag (21. IX.) ist $\Delta G_{3-4} = 0,0079$, $\Delta G_{4-5} = 0,0072$.

0,7 mol Mannit: eingelegt 20. IX. 23^h, 1. Messung 21. IX. 11^h 25—55, 2. Messung 23^h 43—50, $t = 13\frac{1}{2}^\circ$, $\Delta G = 0,0050$.

Verglichen mit Erythrit und den Zuckern, liegt der Wert des Harnstoffs sehr niedrig. So permeiert der Harnstoff hier in den Korollzellen nur etwa viermal, in der obigen Reihe kaum dreimal so schnell als der Erythrit. Ein ähnlich niedriges Verhältnis der Permeationswerte findet sich nur bei sehr wenigen der bis jetzt bekannten Objekte, nämlich bloß bei Melosira (MARKLUND, S. 71) und bei Mesophyllzellen des Wasserblattes von Hippuris (WAHRY, S. 694). In die Stengelzellen von Gentiana dringt der Harnstoff etwa 100mal rascher als der Erythrit. — Die Zucker permeieren durch Plasma der Korolle naturgemäß langsam, aber nicht langsamer, sondern etwa gleich schnell wie bei anderen Zellsorten (vgl. HÖFLER 1926).

Als ausgesprochener, fast extremer „Glyzerintypus“ erscheinen die Korollzellen besonders darin, daß selbst der Methylharnstoff in seiner Permeationsgeschwindigkeit hinter dem Glyzerin zurückbleibt. Das ist bei den etwa 20 bis heute geprüften Objekten sonst nirgends der Fall. Zum Vergleich dieser zwei Diosmotika teile ich noch ein streng vergleichbares Versuchspaar mit.

0,9 mol Methylharnstoff.

22. IX. 1934.

Präparat 8 Stunden gewässert, in die Lösung eingetragen um 21^h 20, 1. Messung 21^h 41—43½, 2. Messung 21^h 46½—50, 3. Messung 21^h 51½—55,
 $t = 16\frac{1}{2}^{\circ} \text{C.}$

$G_1 = 0,792$	0,800	0,812	0,830	0,853	0,845	0,824	0,882
$G_2 = 0,827$	0,821	0,850	0,870	0,901	0,889	0,878	0,912
$G_3 = 0,865$	0,860	0,899	0,916	0,929	0,927	0,927	0,964
$\Delta G_{1-2} = 0,375$				$(\Delta G_{3-4} = 0,509)$			

0,9 mol Glyzerin.

22. IX. 1934.

Präparat 8½ Stunden gewässert, eingetragen 21^h 46, 1. Messung 22^h 10—14½, 2. Messung 22^h 17—20, 3. Messung 22^h 22—25.

$G_1 = 0,809$	0,749	0,767	0,884	0,873	0,860
$G_2 = 0,917$	0,846	0,821	0,941	0,941	0,912
$G_3 = 0,949$	0,946	0,871	0,97	gr.	gr.

$\Delta G_{1-2} = 0,647$ $\Delta G_{3-4} = 0,724$

Die ΔG_{1-2} -Werte (vom ersten Messungsintervall) verhalten sich wie $0,375 : 0,647 = 1 : 1,73$.

Wir stellen in der folgenden Tabelle die Permeabilitätsreihen der Koroll- und Stengelhautzellen zum Vergleich nebeneinander. Wir beschränken uns dabei auf die wichtigsten Verbindungen, für welche auch die nach dem plasmometrischen Totalverfahren gewonnenen Werte ganz außer Zweifel stehen; wogegen alle Verbindungen, bei denen sekundäre Permeabilitäts-erhöhung oder Schädigung des Plasmas in Frage kommt, vorläufig von der Betrachtung auscheiden². (Die Oberflächenreduktion der Permeationswerte kann unterbleiben, denn die Zellgröße und rel. Ofl.-Entwicklung der Stengel- und Blütenzellen ist ganz ähnlich. Der Umrechnungsfaktor wäre für erstere $P = 0,00055 P'$, für letztere $P = 0,00056 P'$.)

² HOFMEISTER's (1935) plasmometrisches Partialverfahren, durch welches auch viele in reiner Lösung schädigende Verbindungen der Untersuchung zugänglich werden, ist auf Gentiana bisher noch nicht angewandt worden.

Aufs klarste erkennen wir, daß die Durchlässigkeitseigenschaften des Plasmas der Korollzellen nicht nur in Einzelzügen, sondern ganz grundsätzlich von denen der Stengelhautzellen verschieden sind.

Gentiana Sturmi ana, Relativwerte ΔG			
Mol-Vol	Diosmotikum	Korolle	Stengel-Epidermis
59,2	Harnstoff	0,088	4,0 (1,5 — 9,0)
81,2	Methylharnstoff	0,246	1,40
87,8	Glyzerin	0,695	1,04
104,4	Malonamid	0,047	0,277
130,2	Erythrit	0,031	0,036
183,2	Fruktose		0,004
345,6	Saccharose	0,002	0,002

Abb. 2 zeigt die ΔG -Werte der beiden Reihen auf logarithmischer Skala in der zuerst von HOFMEISTER, dann von MARKLUND und WAHRY angewandten Darstellung.

Die Permeabilitätsreihe der Korollzellen von *Gentiana* stellt einen ausgesprochenen Glyzerintyp, die Reihe der Stengel-epidermis einen ausgesprochenen, ja extremen Harnstofftyp dar.

Die Stengelhautzellen waren schon früher eingehend untersucht worden. Eine vorläufige Mitteilung ist (1934 a, S. 362) erfolgt; die ausführliche Veröffentlichung steht bevor. Der Harnstoff permeiert, absolut betrachtet, sehr schnell und er durchdringt das Plasma noch viel rascher als sein Derivat, der Methylharnstoff. Dieser Zug hat mich bei der ersten Beobachtung sehr überrascht, denn gleiches Verhalten war damals noch für kein anderes Objekt bekannt.

Gehen wir nun auf den Vergleich der beiden Gewebe näher ein, so fällt vor allem auf, daß die Überlegenheit des Harnstoffs über sein Derivat, dies merkwürdigste Kennzeichen des Epidermisplasmas, sich in den Korollzellen nicht wiederfindet. Bei diesen permeiert der Methylharnstoff etwa zwei- bis dreimal schneller als der Harnstoff, was durchaus der OVERTON'schen Regel entspricht. — Der absoluten Größe nach bleibt aber der Methylharnstoffwert der Ko-

rolle doch noch weit hinter dem der Epidermis zurück. Gleiches gilt für das Malonamid, das in der Epidermis etwa sechsmal schneller permeiert. — Im schroffen Gegensatz dazu steht das Verhalten

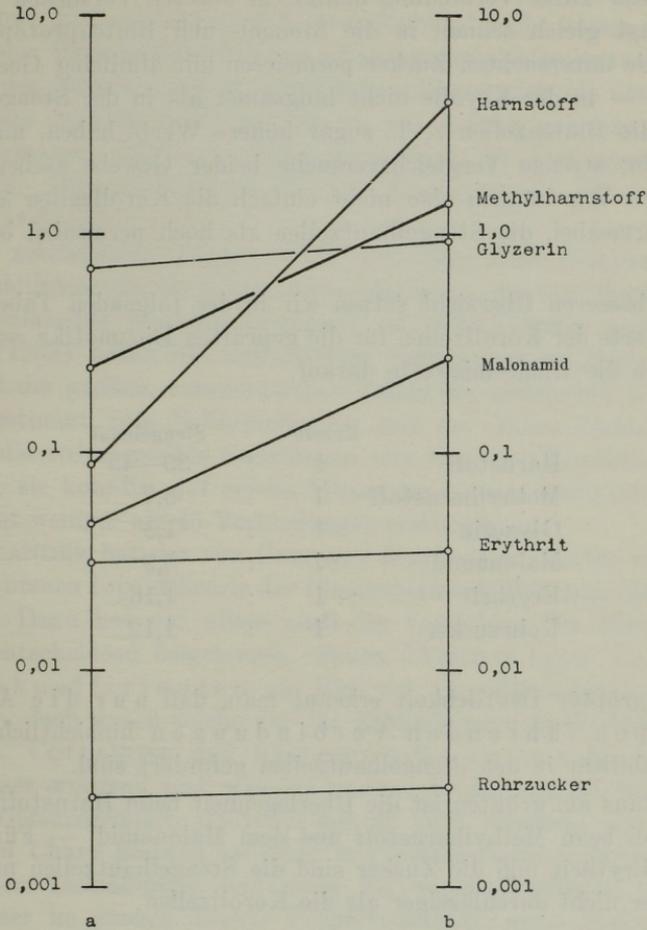


Fig. 2. Permeabilitätsreihen von *Gentiana Sturmiiana*
 a Korollzellen
 b Stengelhautzellen

des Glyzerins; es dringt in die beiderlei Zellen mit ähnlicher Geschwindigkeit — in die Epidermiszellen bloß etwa $1\frac{1}{2}$ mal

schneller (während der Harnstoff in diese um 40mal schneller permeiert).

Von Interesse ist auch das relative diosmotische Verhalten des Erythrits. Diese Verbindung dringt, in unseren Versuchen zumindest, fast gleich schnell in die Stengel- und Blütenprotoplasten. Auch die untersuchten Zucker permeieren mit ähnlicher Geschwindigkeit — in der Korolle nicht langsamer als in der Stengelhaut. (Daß die Blütenzellen z. T. sogar höhere Werte haben, mag Zufall sein, strenge Vergleichsversuche beider Gewebe stehen noch aus.) — Wir können also nicht einfach die Korollzellen als niedrig permeabel, die Stengelhautzellen als hoch permeabel bezeichnen.

Zur besseren Übersicht setzen wir in der folgenden Tabelle die ΔG -Werte der Korollzellen für die geprüften Diosmotika = 1 und beziehen die Epidermiswerte darauf.

	Korolle	:	Stengelhaut
Harnstoff	1	:	30—45
Methylharnstoff	1	:	5,7
Glyzerin	1	:	1,5
Malonamid	1	:	5,9
Erythrit	1	:	1,16
Rohrzucker	1	:	1,12

Mit größter Deutlichkeit erkennt man, daß nur die Amidgruppen führenden Verbindungen hinsichtlich ihrer Permeabilität in den Stengelhautzellen gefördert sind.

Weitaus am größten ist die Überlegenheit beim Harnstoff, mäßig groß beim Methylharnstoff und dem Malonamid. — Für Glycerin, Erythrit und die Zucker sind die Stengelhautzellen nur wenig oder nicht durchlässiger als die Korollzellen.

III. Besprechung und theoretische Deutung.

Dies Verhalten steht in bester Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren. HOFMEISTER und MARKLUND, die zahlreiche Permeabilitätsreihen vergleichen konnten, weisen übereinstimmend auf die Häufigkeit des amidophilen Typus hin. HOF-

MEISTER sagt zusammenfassend (1935, S. 66): „Die Permeabilitätsänderungen von Objekt zu Objekt sind für alle angewandten Verbindungen, welche Aminogruppen enthalten, gleichsinnig.“ MARKLUND findet bei sechs von seinen neun Reihen den amidophilen Typus. Er hebt hervor, daß „Amidophilie“ nicht immer mit extrem hoher Harnstoffdurchlässigkeit zusammenzufallen braucht. Die Zellen des Moores *Plagiothecium* kennzeichnen sich als amidophiler Typus dadurch, daß Glycerin, an den Amidon gemessen, langsam permeiert; selbst das Malonamid diosmiert dort rascher als Glycerin. Dennoch liegt der absolute Harnstoffwert ($P' = 0,30$) nicht gar hoch.

Dem amidophilen Typus gehört vor allem auch COLLANDER's Permeabilitätsreihe für *Chara ceratophylla* an, die mit überlegener mikrochemischer Methode gewonnen ist. COLLANDER und BÄRLUND (1933) haben die endosmierten Substanzen im abgezapften Zellsaft der großen, coenocytischen Zellen der genannten Alge direkt bestimmt (die N-Verbindungen mit der Mikro-Kjeldahl-Methode, die reduzierenden Substanzen mit BANG's Chromsäure-Methode); sie konnten auf solche Weise die Permeationskonstanten für nicht weniger als 45 Verbindungen ermitteln. —

COLLANDER hat der von OVERTON begründeten, später vielfach angefochtenen Lipoidtheorie der Plasmapermeabilität zum Sieg verholfen. Dazu hat vor allem auch die Vertiefung der Modellversuche entscheidend beigetragen. Schon OVERTON hatte Verteilungskoeffizienten als Maß der Lipoidlöslichkeit herangezogen, doch waren solche nur für Äther/Wasser direkt bestimmt worden. COLLANDER und BÄRLUND haben sie auch für Olivenöl/Wasser ermittelt und, was für uns von Bedeutung ist, auch für ein Öl-Ölsäuregemisch (Olivenöl mit 20 Vol% Ölsäure) und Wasser. Bei *Chara* bestand zwischen den Permeationskonstanten der geprüften Verbindungen und ihren Verteilungsquotienten Olivenöl/Wasser im ganzen direkte Proportionalität, nicht bloße Symbasie. COLLANDER sieht hierin „einen neuen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Auffassung, wonach die Zellgrenzschichten Lipoide (von ähnlichem Lösungsvermögen wie das Olivenöl) enthalten und wonach die Permeation zum großen Teil durch diese Lipoide hindurch geschieht.“ — Kleinmolekulare Verbindungen treten allerdings aus der Reihe, indem sie vielfach schneller, als ihrer Öllös-

lichkeit entspricht, permeieren; die maßgebenden Plasmaschichten scheinen somit doch auch eine gewisse Filterwirkung auszuüben, derart, daß sie kleine Teilchen (bei Chara etwa unter $0,4 \mu\mu$) auch intramizellar, d. h. auf dem Porenweg durchtreten lassen. COLLANDER's „Lipoidfiltertheorie“ findet steigende Anerkennung bei der Mehrzahl der maßgebenden Autoren.

Handelt sich's nun um die Deutung jener Permeabilitätsdifferenzen verschiedener Plasmen, die in den spezifischen Reihen ihren Ausdruck finden, so kommen vor allem zwei Vorstellungen in Betracht, variable Porenweite und -dichte oder wechselndes Lösungsvermögen der Plasmahautlipoide. Ein Blick auf die Mannigfaltigkeit der spezifischen Reihen artverschiedener Zellsorten, wie sie von HOFMEISTER und MARKLUND erstellt wurden, zeigt, daß mit der Vorstellung wechselnder Porengröße allein nicht auszukommen ist. Schon der Unterschied zwischen Harnstoff- und Glycerintypus müßte unverständlich bleiben, solange man ein einheitliches Lipoid für die Grenzschichten aller Zellen annimmt. Die Unterschiede werden dagegen im Prinzip erklärbar, wenn man — wie HÖBER und seine Mitarbeiter (WILBRANDT 1931) es zuerst taten — von Plasma zu Plasma wechselnde Zellipoide annimmt, die, mit ungleichen Löslichkeitseigenschaften ausgestattet, die wechselnden Permeabilitätseigenschaften bestimmen.

So öffnet sich auch ein Weg zum Verständnis der Plasmaverschiedenheiten, die uns in dieser Arbeit beschäftigen. COLLANDER und BÄRLUND haben die Perm.-Reihe für Chara mit der dem Glycerintypus angehörenden Reihe von Rhoeo, die BÄRLUND (1929) plasmolytisch untersucht hatte, verglichen. Der auffälligste Unterschied beider Reihen lag darin, daß „bei Chara die Amide (und das noch stärker basische Urotropin) im Verhältnis zu den nicht-basischen Verbindungen relativ schneller als bei Rhoeo permeieren“. Das läßt sich aber so erklären, daß die Lipoidgemische, die die Grenzschichten der amidophilen Plasmen aufbauen, ein spezifisch größeres Lösungsvermögen (im weitesten Sinne des Wortes) für schwach basische Substanzen besitzen. — Mit dieser Deutung stehen die erwähnten Modellversuche im besten Einklang; denn aus ihnen geht hervor, daß der Ölsäurezusatz das Lösungsvermögen des Olivenöls gerade für jene Substanzen am meisten steigert, die durch das (amidophile) Charaplasma relativ leichter als durch das Rhoeo-Plasma permeieren.

Wir setzen einige der COLLANDER'schen Verteilungskoeffizienten für Olivenöl/Wasser (k_o) und Öl-Ölsäure/Wasser (k_s) hierher. Der Quotient k_s/k_o (l. c. 1933, S. 90) gibt an, wie stark der Ölsäurezusatz das relative Lösungsvermögen des Olivenöls für die einzelnen Substanzen erhöht.

	$k_o \cdot 10^4$	$k_s \cdot 10^4$	k_s/k_o
Harnstoff	1,5	52	35
Methylharnstoff	4,4	96	22
Glyzerin	0,7	1,5	2,1
Malonamid	0,8	11	14
Erythrit	0,3	0,6	2

Was nun für die artverschiedenen Plasmen von Chara und Rhoegalt, das gilt auch für den Vergleich der artgleichen, gewebeschiedenen Plasmen von Stengelhaut und Korolle unserer Gentiana. Wie obige Tabelle (S. 236) zeigt, permeieren gerade diejenigen Verbindungen in die Stengelhautzellen viel rascher, für die der Quotient k_s/k_o hohe Werte aufweist.

Die Stengelhautzellen gehören dem amidophilen, die Korollzellen dem amidophoben Typus an. Wir dürfen daraus schließen:

Die Plasmahautlipoide der Stengelhautzellen haben einen mehr sauren, die der Korollzellen einen mehr basischen Charakter. —

Ein Zug im Permeabilitätsverhalten der Stengelhautzellen bedarf noch besonderer Deutung, nämlich der extrem hohe Harnstoffwert. Der Plasmolyserückgang in Harnstoff erfolgt in ihnen ja 20—45mal schneller als in der Korolle und das Verhältnis der Perm.-Konstanten P' dürfte (vgl. HÖFLER und STIEGLER 1930, S. 482) noch extremer sein. Für Methylharnstoff und Malonamid verhalten sich die ΔG -Werte beider Gewebe bloß wie 1 zu 5—6 (oben S. 236). Das Verhältnis bleibt kleiner als im Lösungsmodell (was ja bei der Annahme einer relativ schwächeren „Ansäuerung“ der lösenden Plasmaschichten plausibel ist). — Der extreme Harnstoffwert findet in COLLANDER's Lösungmodell noch keine Erklärung! Als ich 1933 fand, daß der Harnstoff in der Stengelhaut rascher als der Methylharnstoff permeiert, deutete ich dies im Sinne des Filterprinzips. An dieser Deutung muß wohl festgehalten werden; denn wir kennen bislang kein Lösungsmodell, das eine geringere Löslichkeit des Methylharnstoffs verständlich werden ließe. Selbst für das Öl-Ölsäuregemisch/Wasser ist der Verteilungskoeffizient für Methylharnstoff (0,0096) fast doppelt so groß wie für Harnstoff (0,0052). Nach der Vorstellung der Lipoidfiltertheorie müßte es — bildlich ausgedrückt — in der Plasmahaut der Stengelzellen „Poren“ geben, die so weit sind, daß sie für Moleküle von der Größe des Harnstoffs gangbar sind. — Daß Harnstoff rascher als Methylharnstoff permeiert, ist seither auch

für *Taraxacum* (HOFMEISTER), für Elodeablattzellen aus „Zone II“ (MARKLUND) für Mesophyllzellen des Luftblattes von *Hippuris* (WAHRY) beobachtet worden; doch ist nach MARKLUND gerade das Verhältnis jener zwei Verbindungen beim gleichen Objekt einigermaßen labil und ich habe ähnliches wahrgenommen.

Die Zugehörigkeit zum amidophilen oder amidophoben Typus scheint den einzelnen Plasmen fester zu eignen.

Jüngst hat WAHRY (1936) einen interessanten Fall des Vorkommens verschiedener Permeabilitätsreihen in derselben Pflanze beobachtet. Sie untersucht vergleichend plasmometrisch die Mesophyllzellen des Luftblattes und des Wasserblattes von *Hippuris*. Diese Zellen sind auch morphologisch stark verschieden; die vom Wasserblatt sind groß und parallel der Blattfläche lang gestreckt, die Luftblattzellen sind klein und stehen als Palisaden senkrecht zur Blattfläche. Wie WAHRY nachweist, gehört das Plasma der Wasserblattzellen dem Glycerin-, das der Luftblattzellen dem Harnstofftyp an und WAHRY vergleicht ihre für jenes gefundene Reihe mit meiner *Majanthemum*-, die für dieses gefundene mit meiner *Gentiana*-Reihe. Auch der Vergleich mit Blüten- und Stengelzellen von *Gentiana* ließe sich führen. — Ich kann WAHRY's Ansicht indes nicht teilen, wenn sie schließt, daß ihre Reihen bloß verschiedene Zustände des gleichen Plasmas widerspiegeln und die Permeabilitätsreihen in erster Linie nur physiologische Typen darstellen oder wechselnden physiologischen Zuständen entsprechen. Ich sehe vielmehr in den Zellen des Luft- und Wasserblattes (auch morphologisch) verschiedene Zellsorten, die eben auch ein verschiedenartiges Plasma besitzen, so gut wie bei anderen Arten Haut- und Parenchym-, wie Stengel- und Blütenzellen.

Auf STRUGGERS (1934, 1935, S. 456) eindringende Untersuchung am Plasma junger, wachsender und älterer, erwachsener Zellen sei hier nur hingewiesen; ich will auf sie a. and. O. ausführlich eingehen. Der genannte Forscher, sowie MARKLUND (1936, S. 31) haben neben anderen plasmatischen Änderungen auch solche der Permeabilität schon nachgewiesen. Nach STRUGGER haben junge Zellen oft mehr saure, ältere oft mehr basische Eigenschaften. Es sei darum erwähnt, daß die Korollzellen von *Gentiana* nicht bloß im alten, erwachsenen Zustand dem Glycerintypus angehören: auch in jungen, noch unerwachsenen Korollröhren konnte HOFMEISTER

in orientierenden Messungen mit aller Deutlichkeit die raschere Fermeation des Glycerins beobachten.

Wir dürfen das Hauptergebnis festhalten: Die für den Stoffdurchschnitt maßgebenden Plasmagrenzschichten der amidophilen Stengelhautzellen von *Gentiana* haben mehr saure, die der amidophoben Korollzellen mehr basische Eigenschaften — und was für die „Plasmahäute“ gilt, das gilt wohl für das Gesamtplasma, aus dem ja jene gebildet werden.

Mit dieser Vorstellung ist eine wichtige Arbeitshypothese gewonnen. Analoge Differenzen in der Größe der Harnstoffpermeabilität verschiedener Zellsorten derselben Pflanze kenne ich schon heute von zahlreichen Blütenpflanzen. Entsprechende Unterschiede der spezifischen Permeabilitätsreihen lassen sich fast voraussagen. Und Aziditätsunterschiede der Gewebsplasmen dürften weite Verbreitung haben. Wir stehen damit an der Schwelle eines wichtigen Kapitels der „protoplasmatischen Anatomie“, dieser jungen, von WEBER (1929) angeregten Disziplin.

Für den Mikrochemiker aber ergibt sich die Aufgabe, den durch die Permeabilitätsforschung erwiesenen Plasmadifferenzen nun auch mit direkten Methoden am lebenden Plasma nachzuspüren. Wahrscheinlich besitzen ja doch die zu vergleichenden Gesamtplasmen eine verschiedene aktuelle Azidität, die bei geeigneter p_{H} -Bestimmung faßbar werden müßte. Wir denken dabei, neben den bekannten Methoden (MOLISCH, 1923, S. 25), zumal auch an die Möglichkeit plasmatischer Mikroinjektion (CHAMBERS) solcher Farbstoffindikatoren, die sonst in das lebende Plasma nicht einzudringen vermögen.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

1. Die Plasmen der Stengelhaut- und der Korollzellen von *Gentiana Sturmiiana* weisen völlig verschiedene Permeabilitätsreihen auf.
2. Jenes gehört dem amidophilen Typ (u. zw. einem extremen Harnstofftyp), dieses dem Glycerintyp an.
3. Diesen Unterschieden im Permeabilitätsverhalten müssen chemische Unterschiede der Plasmen (oder ihrer für den Durchtritt

- maßgebenden Grenzschichten) zugrunde liegen, die ein verschiedenartiges Lösungsvermögen für die diosmierenden Stoffe bedingen.
4. Wahrscheinlich besitzen die amidophilen Stengelhautzellen ein mehr saures Plasma, die amidophoben Blütenzellen ein mehr basisches Plasma.
 5. Analoge Unterschiede der lebenden Plasmen verschiedener histologischer Zellsorten dürften bei krautigen Pflanzen weit verbreitet sein.

Literaturnachweis.

- BÄRLUND H., Acta Bot. Fenn. **5**, 1 (1929).
 CHAMBERS R., Biol. Bulletin, **55**, 369 (1928).
 COLLANDER R. u. BÄRLUND H., Soc. Scient. Fenn., Comment. Biol. II, Nr. 9 (1926).
 — — Acta Bot. Fenn., **11**, Helsingfors (1933).
 GAHLEN K., Protoplasma **22**, 337 (1934).
 HÖBER R. u. PUPILLI G., PFLÜGER's Arch. **226**, 586 (1931).
 — u. ØRSKOV S. L., ebd. **231**, 599 (1933).
 — u. ULRICH H., Klin. Wochenschr. **13**, 63 (1934).
 HÖFLER K., Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **36**, 414 (1918).
 — — Planta **2** (MOLISCH-Festschrift) 454 (1926).
 — — Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **50**, 53 (1932).
 — ebd. **52**, 355 (1934 a).
 — Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., I. Abt. **143**, 213 (1934 b).
 HÖFLER K. u. STIEGLER A., Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **39**, 157 (1921).
 — — Protoplasma **9**, 469 (1930).
 HOFMEISTER L., Bibliotheca Botanica, Heft 113 (1935).
 HURCH H., Beih. Bot. Zentralbl., **50**, 211 (1933).
 MARKLUND G., Acta Bot. Fenn., **18**, Helsingfors (1936).
 MEINDL T., Protoplasma **21**, 362 (1934).
 MODER A., Protoplasma **16**, 1 (1932).
 MOLISCH H., Mikrochemie der Pflanze, 3. Aufl. Jena (1923).
 OVERTON E., Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich **40**, 159 (1895).
 — ebd. **44**, 88 (1899).
 SIRUGGER S., Jb. f. wiss. Bot. **79**, 406 (1933).
 — Praktikum der Zell- u. Gewebephysiologie d. Pflanze. Berlin (1935).
 VRIES H. DE, Bot. Ztg. **47**, 309, 325. Opera coll. **2**, 553 (1889).
 WAHRY E., Jb. f. wiss. Bot. **83**, 657 (1936).
 WEBER F., Protoplasma **8**, 291 (1929).
 — ebd. **10**, 608 (1930).
 WILBRANDT W., PFLÜGER's Arch. **229**, 86 (1931).