

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Darmstadt

DER EXPERIMENTELLE NACHWEIS  
EINER MASSENSTRÖMUNG IM PHLOEM  
VON *HERACLEUM MANTEGAZZIANUM* SOMM. ET LEV.

Von

HUBERT ZIEGLER\* und GEORG HEINRICH VIEWEG

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. November 1960)

**Einleitung**

Seit der Formulierung der Massenströmungstheorie durch MÜNCH (1930) ist die Diskussion um den Mechanismus des Stofftransportes in den Siebröhren nicht mehr zur Ruhe gekommen. Sowohl die Anhänger der Münchschen Auffassung als auch diejenigen, die ihr ablehnend gegenüberstanden, stützten sich zumeist auf Indizien, nicht auf direkte Belege; die ersteren etwa auf den Nachweis der wichtigsten Voraussetzungen für die Strömung in den Siebröhren, wie der Semipermeabilität und der Wegsamkeit dieser Elemente und des osmotischen Gradienten in der Strömungsrichtung, oder auf die zahlreichen Befunde über ein Miteinanderlaufen der verschiedensten Stoffgruppen im Phloem; die anderen z. B. auf die Abhängigkeit der Stoffleitung vom Stoffwechsel der Leitgewebe, auf das verschiedentlich beobachtete Gegeneinanderwandern verschiedener Stoffe im selben Rindenabschnitt oder auch auf den Zellbau der Siebröhren, der in mancher Hinsicht einer Strömung des Lumeninhaltes zu widersprechen schien.

Die bisherigen Versuche zum direkten experimentellen Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens einer Strömung in den Siebröhren schlugen entweder fehl (z. B. Auflichtmikroskopie, HUBER 1932; thermoelektrische Messung, HUBER, SCHMIDT u. JAHNEL 1937) oder brachten widersprechende Resultate, wie z. B. der Verfolg des Transportes von fluoreszierenden Farbstoffen, die nach SCHUMACHER (1933) im Plasma, nach ROUSCHAL (1941) und BAUER (1949) aber im Lumen der Siebröhren wandern, oder die Analyse des Transportes von Tritiumwasser (THO) im Phloem, die bei BIDDULPH u. CORY (1957) zur Feststellung einer beträchtlichen, für die Massenströmung ausreichenden Wasserverschiebung, bei GAGE u. ARONOFF (1960) aber zu gegenteiligen Befunden führte.

Zwei günstige Voraussetzungen veranlaßten uns, die thermoelektrische Methode erneut für die Klärung dieses Problems einzusetzen: Einmal hatte unsere Versuchsanordnung (VIEWEG u. ZIEGLER 1960), in

---

\* Herrn Prof. Dr. A. FREY-WYSSLING zum 60. Geburtstag gewidmet.

der wir bei (schwacher) Dauerheizung die Temperaturdifferenzen symmetrisch zur Heizstelle angebrachter Lötstellen ermittelten, eine Empfindlichkeitsschwelle von etwa 3 cm Strömung pro Stunde ergeben, einen Wert also, der weit unter der Wandergeschwindigkeit der Assimilate im Phloem (Größenordnung 50—100 cm/h) lag; zum anderen besaßen wir in den Blattstielen von *Heracleum Mantegazzianum* ein Objekt, das mit reinen Phloemsträngen zu arbeiten und damit jede Störung durch den Transpirationsstrom, welche die entsprechenden Experimente von HUBER u. Mitarb. zur Ergebnislosigkeit verurteilte, auszuschließen erlaubte.

Daß eine Verfrachtung von Wärme mit einer Geschwindigkeit, die über das Ausmaß der Wärmediffusion hinausgeht, einen zwingenden Beleg für eine Massenströmung in dem geprüften System darstellen würde, ist nicht zweifelhaft (vgl. auch HUBER u. Mitarb.).

### Material und Methoden

*Material.* Da der Botanische Garten in Mainz über stattlichere *Heracleum*-Pflanzen verfügt als der in Darmstadt, wurden die Experimente dort durchgeführt<sup>1</sup>. Die Blattflächen der Pflanzen zeigten zur Versuchszeit (6. und 13. August 1960<sup>2</sup>) schon erste Vergilbungserscheinungen, es wurden für die Experimente aber nur solche mit rein grünen Laminæ und etwa 1,5 m langen Stielen ausgewählt. In den Stiel des jeweiligen Versuchsblattes wurde eine rechteckige Öffnung von ungefähr 6 cm Länge und 2 cm Breite eingeschnitten, welche das hohle Stielinnere freilegte. Ein starkes Leitbündel (von etwa 1 mm Durchmesser) wurde dann im unverletzten Teil des Stieles vorsichtig und ohne Verletzung aus dem Grundgewebe herausgelöst und schließlich auf eine Strecke von 5—6 cm das Phloem vom Xylem getrennt (vgl. ZIEGLER 1958). Während dieser Manipulationen wurde das Gewebe im Stielinnern feucht gehalten.

Wie frühere Versuche gezeigt hatten, sind derartige streckenweise freiliegende Phloemstränge zu einer normalen Assimilat- und Farbstoffleitung in gleicher Weise befähigt wie Leitbündel in ihrer ursprünglichen Lage. Das verwendete Entwicklungsstadium der Pflanzen ist zudem durch einen besonders lebhaften Stofftransport aus den Blattspreiten gekennzeichnet.

*Versuchsordnung.* Nachdem Vorversuche gezeigt hatten, daß das empfindliche Gewebe des Phloems das Anbringen von Heizschlaufen und das Bloßliegen während der Versuchszeit nicht vertrug, wurde folgende Anordnung als brauchbar befunden (Abb. 1, 2): In ein Plexiglasblöckchen von 37,5 mm Länge, 9 mm Breite und 4 mm Höhe wurde zunächst ein „Schwalbenschwanz“ von 1 mm Tiefe und 6 mm Breite eingefräst, in den ein entsprechender Plexiglasdeckel (*D*) eingeschoben werden konnte (etwa nach Art eines Griffelschachtel-Verschlusses); zur leichteren Handhabung ist es zweckmäßig, wenn der Deckel etwas länger ist als der Boden (in unserem Falle war er 47 mm lang). In die Oberfläche des Bodens wurde dann der

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. W. TROLL danken wir für die freundliche Nutzungserlaubnis.

<sup>2</sup> Herrn Prof. Dr. E. KNAPP, Direktor des Max Planck-Institutes für Pflanzen-genetik, danken wir für die Beurlaubung des einen von uns (G. H. V.).

ganzen Länge nach eine Rinne (*R*) von 2 mm Tiefe und 1,5 mm Breite eingeschnitten, die sich in der Mitte des Blockes auf 12 mm Länge zu einem 3,5 mm breiten und 2,5 mm tiefen Raum (*K*) erweiterte. In diese Kammer wurden durch seitliche Bohrungen die Kupfer-Konstantan-Lötstellen (*L*) fest eingebracht; sie befanden sich in 1,5 mm Tiefe (1,0 mm über dem Boden der Kammer) und waren 5 mm voneinander entfernt. Der Konstantendraht (*Ko*) verband beide Lötstellen, die Kupferdrähte (*Cu*) führten zum Meßinstrument<sup>1</sup>.

Bei den Versuchen kam nun der freigelegte Phloemstrang (*P*) in die Längsrinne des Blockes und wurde mittels zweier Seidenfadenschlingen (*S*), die durch Löcher

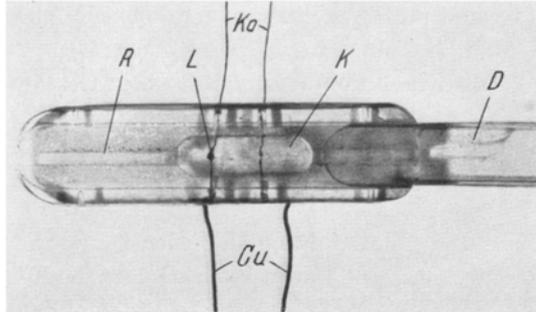


Abb. 1. Plexiglas-kammer zur Aufnahme des Phloems. Erläuterung im Text. Vergrößerung etwa 1,4fach

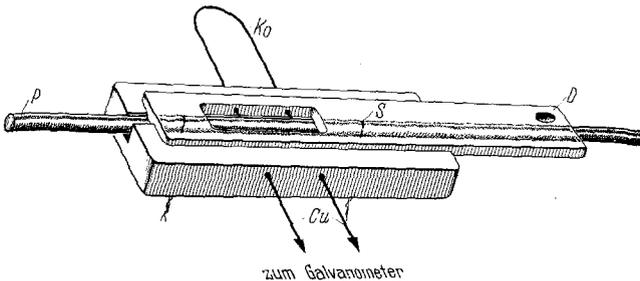


Abb. 2. Skizze der beschickten Kammer. Erläuterung im Text. Maßstab 1:1

im Rinneboden geführt waren, fest, aber schonend gegen die Lötstellen gedrückt; der Deckel wurde dann geschlossen und das Fenster im Blattstiel soweit mit feuchtem Zellstoff abgedeckt, daß nur der mittlere Teil des Plexiglas-kammerchens freilag.

Geheizt wurde mittels eines auf  $\frac{1}{2}$  mm Breite gebündelten Lichtstrahles, der von einer Phywe-Mikroskopierlampe mit einer Osram-Birne (6 V, 5 A) erzeugt wurde; der Abstand der Linsen von der Lichtquelle in der Lampe war von uns auf 26 cm verlängert worden. Als Stromquelle diente entweder eine 6 Volt-Batterie oder das 220 Volt-Netz<sup>2</sup>. Die Stromstärke (und damit die Heizintensität) konnte

<sup>1</sup> Unserem Institutsmechaniker, Herrn GEORG GERMANN, danken wir für die sorgfältige und geschickte Fertigung der Kammern.

<sup>2</sup> Da der Standort des *Heracleum* im Mainzer Garten weit von der nächsten Stromquelle entfernt ist, mußten für die Versuche 350 m Kabel gelegt werden; für die leihweise Überlassung sind wir der Hessischen Elektrizitäts AG, Herrn Direktor Prof. W. STRÄHRINGER, zu Dank verpflichtet.

durch einen Schiebewiderstand bzw. einen Regeltransformator und durch die Änderung des Abstandes zwischen Lampenende und Plexiglaskammer variiert werden. Die Heizdauer wurde möglichst kurz gehalten, sie betrug jeweils nur wenige Minuten.

Zur Messung der entstandenen Thermospannung wurde ein Hartmann & Braun-Lichtstrichgalvanometer (Ausschlag über die ganze Skalenbreite entspricht  $12,5^{\circ}\text{C}$  Temperaturdifferenz der Kupfer-Konstantan-Lötstellen, 1 Skalenteil  $0,125^{\circ}$ ) verwendet.

Es war notwendig, die ganze Anordnung (Blattstiel und Lampe) mittels verstreuter Stative und Schraubklammern in eine fixe Lage zu bringen.

### Versuchsdurchführung und Ergebnis

Es erwies sich als unmöglich, den Lichtstrahl — trotz seiner scharfen Bündelung — ganz genau in die Mitte zwischen den beiden Lötstellen auf das Phloem zu richten. Es konnte deshalb nicht einfach durch die Ermittlung einer entsprechenden Wärmedifferenz zwischen den Lötstellen bei dieser einfachen Anordnung die Frage eines einseitigen Wärmetransportes entschieden werden; zudem waren die zu erwartenden Differenzen bei der notwendigerweise mäßigen Heizung (auf  $0,9^{\circ}\text{C}$  Übertemperatur) ja nur sehr gering.

Folgender Ausweg führte zum Ziel: Es wurden zunächst die Ausschläge des Galvanometers festgestellt, wenn zuerst das Phloem über der einen, dann über der anderen Lötstelle mit derselben Intensität belichtet (und damit geheizt) wurde. Die Mitte zwischen diesen Ausschlägen wurde als Nullage angenommen und das Lichtbündel nun so auf dem Phloemstrang plaziert, daß das Galvanometer diesen Wert anzeigte. (Bei einiger Übung erfordert die ganze Prozedur nur wenige Minuten, so daß eine zu lange Erwärmung des Gewebes vermieden wird.) Im Falle einer Wärmeverschiebung durch Strömung im Phloem mußte die belichtete Stelle etwas von der Mitte gegen die stromaufwärts gelegene Lötstelle verschoben sein, um eine Kompensierung der Wärmezufuhr zu der stromabwärts gelegenen zu ermöglichen; der Betrag dieser Abweichung ist aber bei unserer Anordnung zu gering, als daß er mit der nötigen Sicherheit wahrgenommen werden könnte. Wir halfen uns dadurch, daß wir nach der Einstellung des Nullwertes den Phloemstrang oberhalb der Kammer (näher der Blattspreite) durchtrennten (der Plexiglasbehälter mit dem Phloem behielt während dieser Operation streng seine Lage bei) und so eine vorher eventuell vorhanden gewesene Massenströmung unterbrachen. War ein derartiger Transportmechanismus im intakten Phloem wirksam, so mußte nach seiner Unterbindung die stromabwärts gelegene Lötstelle gegen die stromaufwärts befindliche relativ kälter werden, da sie ja jetzt nicht mehr durch die Strömung mit Wärme versorgt wurde. Gleichzeitig war mit dieser Versuchsanstellung auch ein Einfluß der bloßen Wärmeleitung auf den Meßwert ausgeschaltet; ihr Betrag wurde durch den Schnitt ja nicht verändert.

*In sieben verschiedenen Einzelversuchen wurde jedesmal dieser Effekt, d. h. ein relatives Kühlerwerden der der Blattstielbasis zugekehrten Lötstelle, erhalten. Es steht damit fest, daß im Phloem von *Heracleum Mantegazzianum* ein Wärmetransport durch eine Massenströmung erfolgt.*

Der Ausschlag betrug jeweils 1—2 Teilstriche, das entspricht einem Temperaturunterschied von 0,125—0,250° C; er trat etwa 2—3 sec nach dem Durchtrennen des Phloems ein und erreichte gleich die volle Stärke<sup>1</sup>.

Es war von Interesse, zu erfahren, welcher Strömungsgeschwindigkeit ein derartiger Thermostrom entspricht. Es war uns nur möglich, eine Größenordnung zu ermitteln, doch genügt dies für unseren Zweck vorläufig. Dazu wurde ein Hanffaden von etwa 1 mm Durchmesser anstelle des Phloems in die Kammer gebracht, mit der Lampe in der Mitte zwischen den beiden Lötstellen beheizt und dann ein Wasserstrom durch den Faden erzeugt, indem ein Ende in eine Fluoresceinlösung getaucht, das andere auf Fließpapier gelegt wurde. Die Wanderung der Lösung wurde durch das Verrücken des Fluoresceins (mit einer UV-Lampe) verfolgt. (Das Zurückbleiben des Fluoresceins hinter der Wasserfront ist bei der von uns verwendeten relativ konzentrierten Fluoresceinlösung (etwa 1:10000) so gering, daß es bei unserem groben Versuch nicht ins Gewicht fällt.)

Wir erhielten einen Ausschlag von 0,1° C bei einer Wandergeschwindigkeit von etwa 35 cm/Std. Unser Meßwert am Phloem entspricht daher einer Strömungsgeschwindigkeit der Größenordnung von 35 bis 70 cm/Std, liegt also durchaus im Bereich der vielfach festgestellten Wandergeschwindigkeit der Assimilate (s. oben).

### Diskussion

Unsere Versuchsanordnung schloß einen Einfluß der Wärmediffusion auf den gemessenen Effekt aus; es steht also außer Zweifel, daß im Phloem vor der Durchtrennung die Wärme durch eine einseitig gerichtete (oder zumindest in einer Richtung stark überwiegende) Massenströmung transportiert worden war.

Da neuerdings gelegentlich wieder die Plasmaströmung in den Siebröhren als Vehikel für die beschleunigte Stoffwanderung in Betracht gezogen wird (vgl. z. B. BIDDULPH u. CORY 1960), ist zu überlegen, inwieweit diese Vorgänge bei dem gemessenen Wärmetransport beteiligt sein könnten. Prinzipiell ist natürlich eine Wärmeverschiebung durch strömendes Plasma genau so möglich wie etwa durch strömenden Zellsaft.

Ist nun der Plasmaströmung eine derartige Transportleistung von etwa 50 cm/Std zuzutragen? Strömte das Plasma durch die einzelnen Siebröhrenglieder über die ganze Länge des Phloems von der Heizstelle bis zur Meßstelle (2,5 mm), so wäre mit einer Strömungsgeschwindigkeit

<sup>1</sup> Der Ausschlag blieb in der Folgezeit (beobachtet bis zu 30 min) völlig konstant.

von der Größenordnung von  $10 \mu/\text{sec}$  zu rechnen, wenn man einen Wert zugrunde legt, wie er in den Zellen höherer Pflanzen in Ausnahmefällen erreicht wird (vgl. KAMTYA 1959; Tabelle S. 32). Wir kämen damit auf Stundengeschwindigkeiten von 3,6 cm, also auf einen Betrag weit unter dem gemessenen. Nun kann aber gar keine Rede davon sein, daß das strömende Plasma tatsächlich die Siebplatten passiert; wir müssen daher mit einer erheblichen Verzögerung beim Wärmedurchtritt durch die Siebporen rechnen, die nur durch Wärmediffusion überbrückt werden können. (Auf unserem Transportweg von 2,5 mm finden sich bei *Heracleum* immerhin etwa 8 Siebplatten, und die Siebporen sind jeweils ungefähr  $1 \mu$  dick.) Diese Überlegungen gelten übrigens nicht nur für die Frage der Leistungsfähigkeit der Plasmaströmung für den Wärmetransport, sondern ebenso für die Stoffverschiebung allgemein.

Selbst wenn man aber diesen Schluß noch als nicht absolut überzeugend betrachten wollte, da über die Strömungsgeschwindigkeit des Siebröhrenplasmas nichts Präzises bekannt ist, kann durch die Plasmaströmung der *einseitig* gerichtete Wärmetransport im intakten Phloem nicht erklärt werden. Kann man sich noch — sehr hypothetisch — vorstellen, daß bei der Verfrachtung spezifischer Wanderstoffe das strömende Siebröhrenplasma an den Siebplatten polar be- und entladen wird und so den polaren Ein- und Austritt der Stoffe aus den Siebröhren und damit die gerichtete Wanderung bewerkstelligt, so ist das für die Wärme undenkbar. Das innerhalb der einzelnen Siebröhren (wenn überhaupt) rotierende oder zirkulierende Plasma wird von der Heizstelle aus die Wärme in beide Richtungen gleich schnell forttragen und kann nicht die Ursache für unseren Effekt sein.

Es ist durch unseren Versuch nicht erwiesen, daß die Massenströmung in sämtlichen Siebröhren des analysierten Phloemstranges in der Richtung des gemessenen Wärmetransportes (basalwärts) erfolgte; es ist prinzipiell möglich — wenn auch nicht wahrscheinlich — daß in einer wesentlich kleineren Zahl eine Strömung in der entgegengesetzten Richtung ablief. Es müßte dann allerdings die Wärmetransportleistung, d. h. die Strömungsgeschwindigkeit, wesentlich höher liegen als oben angenommen, um die festgestellte Wärmedifferenz der beiden Lötstellen zu erklären. (Im Modellversuch war die Strömung ja streng einseitig gerichtet.)

Ebensowenig ist mit der eindeutigen Feststellung einer Massenströmung im *Heracleum*-Phloem auch die Möglichkeit anderer Transportmechanismen sowohl bei dem verwendeten als auch bei anderen Objekten ausgeschaltet. Während zunächst keine Notwendigkeit besteht, bei den entwickelten Blattspilleitbündeln von *Heracleum* (die durchwegs nur ausdifferenzierte, reife, kernlose Siebröhren enthielten) verschiedene Arten der Assimilatwanderung anzunehmen, ist es nicht

unwahrscheinlich, daß sich junge und vielleicht auch primitive Siebröhren bzw. -zellen abweichend verhalten. Es wurde dies schon früher in Betracht gezogen (ARISZ 1952, ZIEGLER 1956) und neuerdings auch durch Experimente wahrscheinlich gemacht (BIDDULPH u. CORY 1960).

### Zusammenfassung

Im Phloem der ausgewachsenen Blattstiele vom *Heracleum Mantegazzianum* wurde thermoelektrisch eine Massenströmung nachgewiesen; ihre Geschwindigkeit liegt in der Größenordnung von 35—70 cm/Std.

### Literatur

- ARISZ, W. H.: The transport of organic compounds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **3**, 109—130 (1952).
- BAUER, L.: Über den Wanderungsweg fluoreszierender Farbstoffe in den Siebröhren. *Planta (Berl.)* **37**, 221—243 (1949).
- BIDDULPH, O., and R. CORY: An analysis of translocation in the phloem of the bean plant using THO, P-32 and  $C^{14}O_2$ . *Plant Physiol.* **32**, 608—619 (1957). — Demonstration of two translocation mechanisms in studies of bidirectional movement. *Plant Physiol.* **35**, 689—695 (1960).
- GAGE, R. S., and S. ARONOFF: Translocation. III. Experiments with Carbon 14, Chlorine 36, and Hydrogen 3. *Plant Physiol.* **35**, 53—64 (1960).
- HUBER, B.: Beobachtung und Messung pflanzlicher Saftströme. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **50**, 89—109 (1932).
- E. SCHMIDT u. H. JAHNEL: Untersuchungen über den Assimilatstrom. I. Tharandt. *Forstl. Jb.* **88**, 1017—1050 (1937).
- KAMIYA, N.: Protoplasmic streaming. In: *Protoplasmatologia*, Bd. VIII, 3a. Wien: Springer 1959.
- MÜNCH, E.: Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1930.
- ROUSCHAL, E.: Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren. *Flora (Jena)* **135**, 135—200 (1941).
- SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Siebröhren. *Jb. wiss. Bot.* **77**, 685—732 (1933).
- VIEWEG, G. H., u. H. ZIEGLER: Thermoelektrische Registrierung der Geschwindigkeit des Transpirationsstromes I. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **73**, 221—226 (1960).
- ZIEGLER, H.: Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. *Planta (Berl.)* **47**, 447—500 (1956).
- Über die Atmung und den Stofftransport in den isolierten Leitbündeln der Blattstiele von *Heracleum Mantegazzianum* SOMM. et LEV. *Planta (Berl.)* **51**, 186—200 (1958).

Prof. Dr. HUBERT ZIEGLER, Botanisches Institut der Technischen Hochschule,  
Darmstadt, Roßdörferstr. 140

Dr. GEORG HEINRICH VIEWEG, Max Planck-Institut f. Pflanzengenetik,  
Rosenhof b. Ladenburg a. N.