

Kurze Mitteilung.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Leipzig.)

ÜBER DIE URSACHEN DER UNTERSCHIEDE IN DER „SPEZIFISCHEN“ HARNSTOFFPERMEABILITÄT.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

HANS JOACHIM BOGEN.

(Eingegangen am 14. Dezember 1937.)

In die Erörterung über das Permeabilitätsproblem ist in den letzten Jahren von seiten der „Wiener Schule“ ein neuer Gesichtspunkt eingeführt worden: Der Begriff der spezifischen Permeabilitätsreihen. Hierüber wird im wesentlichen ausgesagt, daß es kein durchgängiges Prinzip gäbe, das auch für die Permeabilität gültig ist, daß vielmehr jede Gewebeart eine ihr eigentümliche Permeabilität habe. Das Maß für diese Permeabilität sei eben die spezifische Permeabilitätsreihe. Um große Unterschiede in diesen Reihen recht augenfällig zu machen, wurden sie nach Harnstoffwerten geordnet bzw. ihre Glieder auf Harnstoff bezogen, da sich gezeigt hatte (z. B. HÖFLER und STIEGLER, 1930), daß die Permeationskonstanten des Harnstoffs besonders unterschiedlich waren. Weiterhin wurden dann aus den so angeordneten Reihen im Sinne der Protoplasmatik HÖFLERS sehr weitgehende Schlüsse gezogen, nicht nur auf unterschiedliche Permeabilität, sondern auch auf die spezifische Beschaffenheit der Plasmagrenzschichten. Diese Folgerungen sind nun so lange unzulässig, als nicht bewiesen ist, daß das unterschiedliche Verhalten der Pflanzen, z. B. gegenüber Harnstoff, nicht auf einfachere, z. B. physiko-chemische Ursachen zurückzuführen ist.

Aus diesen Überlegungen heraus wurde versucht, die „spezifischen“ Wirkungen des Harnstoffes, der als Stoff mit den größten Permeabilitätsunterschieden im Experiment die größten Effekte geben muß, auf die chemisch-physiologischen und physikalisch-chemischen Vorgänge in der Zelle zu ermitteln und zu begründen. Ich möchte mich hier auf die Mitteilung physikalisch-chemischer Untersuchungen beschränken.

Da für die Permeation der Quellungszustand der plasmatischen Grenzschicht eine ausschlaggebende Rolle spielt, erschien eine Prüfung auf die Beeinflussung der Quellung durch Harnstoff erfolversprechend, zumal KOHLER (1936) bereits an *Laminariastücken* eine starke zusätzliche Quellung durch Harnstoff gefunden hatte. Die p_H -Bedingtheit der Elektrolytenquellung ist genügend gesichert, um die gleichen Zusammen-

hänge auch für Harnstoff zu vermuten. Zugleich sind p_H -Unterschiede für pflanzliche Zellen sehr charakteristisch und genau meßbar.

Gleichwohl ist nicht angängig, die Permeationskonstanten (P' -Werte) des Harnstoffs bei verschiedenen p_H -Werten des Zellsaftes zu bestimmen und sie als direkt von diesen abhängig zu betrachten, denn es bestehen zweifellos auch ohne die vorerst hypothetische Harnstoffwirkung Quellungsunterschiede für verschiedene Gewebe. Es ist vielmehr nötig, die P' -Werte für Harnstoff in Beziehung zu setzen zu denen eines anderen, ähnlichen und indifferenten Stoffes. Diesen glaubte ich im Glycerin gefunden zu haben, das ähnliches Molekularvolumen hat und gleichfalls kein zellfremder Stoff ist. Ich bestimmte also für möglichst unterschiedliche pflanzliche Gewebe die P' -Werte für Harnstoff und Glycerin (meist plasmometrisch) und bildete aus ihnen den Quotienten $Q \frac{P'(\text{Harnstoff})}{P'(\text{Glycerin})}$, sowie den p_H des Zellsaftes der betreffenden Gewebe. Zur Vermeidung graphischer Verzerrungen wurde für den Fall, daß $P'(\text{Harnstoff})$ kleiner als $P'(\text{Glycerin})$ war, $Q \frac{P'(\text{Harnstoff})}{P'(\text{Glycerin})} = -Q \frac{P'(\text{Glycerin})}{P'(\text{Harnstoff})}$ gesetzt, so daß ein negativer Quotient aussagt, wievielmals schneller Glycerin als Harnstoff eindringt.

Während der nach dem Ultrafilterprinzip zu erwartende Quotient (je nach Quellungszustand des Plasmas verschieden) zwischen 1,2 und 1,5 liegt, ergaben sich Werte zwischen 6 und $-2,5$. Diese Werte, in Abhängigkeit vom p_H graphisch dargestellt, liegen auf einer komplizierten mehrgipfligen Kurve, deren Verlauf nicht nur durch zahlreiche Bestimmungen an verschiedenen Pflanzen statistisch an etwa 25 Punkten gesichert ist, sondern auch experimentell. Darüber hinaus aber zeigte sich, daß künstliche (Behandlung mit NH_3 , CO_2 u. ä.) und natürliche (Frosthärtung, Altern) p_H -Verschiebungen stets eine Verschiebung des Quotienten streng im Sinne der Kurve zur Folge hatten.

Ich konnte nun feststellen, daß ein Zusatz von Harnstoff zu Glycerin die Glycerinpermeabilität verändert, je nach dem Quotienten bzw. dem p_H . Für *Gentiana frigida* (Stengelepidermis, $Q=7$) wurde die Glycerinpermeabilität erhöht, für *Pelargonium zonale* (Blattstielepidermis, $Q=-2,3$) stark erniedrigt. Die Versuchsanstellung war in beiden Fällen so, daß die Zellen zunächst in Rohrzuckerlösung vorplasmolysiert wurden. Die Rohrzuckerlösung war so konzentriert, daß Plasmolysegrade von $G=0,6-0,7$ erreicht wurden. Der osmotische Wert der Lösungen in Atmosphären wurde nach URSPRUNG berechnet. Danach wurden die Schnitte in eine gleichkonzentrierte Rohrzuckerlösung mit Zusatz von 0,2 mol Harnstoff übertragen, worin sie etwa $\frac{1}{2}-1$ Stunde verblieben, bis zum Konzentrationsausgleich für Harnstoff. Dieser war an dem Wiedererreichen des ursprünglichen Plasmolysegrades erkennbar. Anschließend Übertragung in eine der Rohrzuckerlösung isosmotische Glycerinlösung mit Zusatz von 0,2 mol Harnstoff. Kontrollversuche in reinem Rohrzucker und Glycerin. Die beiden Versuche sind durchaus

vergleichbar, da der Harnstoff osmotisch nicht mehr stört. Außerdem wird vom gleichen osmotischen Gefälle des Glycerins (gleicher Plasmolysegrad) ausgegangen. Für die gefundene Änderung der Glycerinpermeabilität kann nur der Harnstoff verantwortlich gemacht werden, der den Quellungszustand der Grenzschicht beeinflußt im Sinne einer höheren (*Gentiana*) oder geringeren (*Pelargonium*) Hydratation und damit Permeabilität. Einige orientierende Viskositätsmessungen mit der Plasmolysezeitmethode (WEBER) zeigten ein gleichsinniges Ergebnis, indem die Zellen mit höherer Permeabilität geringere Plasmolysezeiten hatten und umgekehrt.

Der Harnstoff beeinflußt also die Quellung der plasmatischen Grenzschichten, und zwar bei verschiedenem p_H in verschiedenem Maße. Es war nun nötig, an Modellen nachzuweisen, daß auch hier Unterschiede der Quellungsbeeinflussung in Abhängigkeit vom p_H bestehen. Zu diesem Zwecke wurden an Gelatine, die in ihren Eigenschaften dem Plasma bzw. den Zellgrenzschichten nahekommen dürfte, Quellungsmessungen ausgeführt. Im Anschluß an KATZ und REMESOV wurde so vorgegangen, daß 10% Gelatine hergestellt wurde, aus dieser möglichst gleichmäßige Würfel mit nicht zu unterschiedlichem Gewicht geschnitten und diese Würfel in die entsprechenden Lösungen gebracht wurden. Ich benutzte drei Versuchserien, deren Lösungen mit m/60 Phosphat- bzw. Zitratpuffer auf 7 verschiedene p_H -Werte im Bereich von p_H 2—7 gebracht wurden. Reihe 1 enthielt die reinen Pufferlösungen, Reihe 2 0,5 mol Harnstoff in Puffer gelöst, Reihe 3 0,5 mol Glycerin in Puffer gelöst, sämtlich mit Thymolzusatz zur Verhinderung eines Bakterienbefalles. Nach Erreichung des jeweils maximalen Quellungszustandes (die Dauer wurde in Vorversuchen ermittelt und zu 30—36 Stunden für Glycerin, zu 15—20 für Harnstoff bestimmt), wurden die Würfel aus der Lösung genommen, gründlich mit Fließpapier abgetrocknet und sofort gewogen. Danach wurde die Gewichtszunahme in Prozenten des Ausgangsgewichtes berechnet und die zusätzliche Quellungsbeeinflussung durch Harnstoff bzw. Glycerin für jeden p_H -Wert ermittelt durch Subtraktion der Quellungs Zunahmen für die reinen Puffer. Eine graphische Darstellung ergab sowohl für Harnstoff als auch für Glycerin zweigipflige Kurven, jedoch lagen die Werte im Harnstoff stets höher als im Puffer (Quellung), im Glycerin dagegen stets niedriger (Entquellung). Die Harnstoff- bzw. Glycerinkurven verhalten sich grob gesehen spiegelbildlich zur x-Achse (reine Pufferquellung). Das Wirkungsminimum liegt in beiden Fällen beim IEP. der Gelatine.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt, daß tatsächlich für jeden p_H -Bereich eine andere Quellungsbeeinflussung durch Harnstoff und Glycerin festzustellen ist. Eine wertvolle Stütze dieser Versuche ist die Arbeit von HEIM (1937), die mir erst jetzt zugänglich wurde¹. Darin wird gezeigt,

¹ Die Bekanntschaft mit dieser Arbeit war der Anlaß zu dieser vorläufigen Mitteilung.

daß im IEP. von Fibrinogen und Gelatine der Harnstoff eine zusätzliche Hydratation der Plasmagrenzschichtkolloide bewirkt, was zur Erklärung der an tierischen Zellen gefundenen Permeabilitäts-erhöhung durch Harnstoff herangezogen wird. Gleichzeitig zeigt es jedoch auch, daß das Glycerin keineswegs der indifferente Stoff ist, für den es gehalten wurde. Aber das ändert nichts an der Bedeutung der Quotientenkurve; die p_H -Abhängigkeit bleibt bestehen.

Der Analogieschluß von der Gelatine auf die Plasmagrenzschichten ist zumindest soweit erlaubt, daß man sagen kann: auch in den Grenzschichten muß mit einer Beeinflussung des Quellungs-zustandes, besonders im plasmolytischen Versuch, durch Harnstoff und Glycerin gerechnet werden. Diese Beeinflussung ist nicht für alle p_H -Bereiche die gleiche. Es besteht die Möglichkeit, daß infolge anderer isoelektrischer Punkte der Grenzschichten, die zudem aus mehreren Komponenten bestehen dürften, die antagonistischen Wirkungen der beiden Plasmolytika nicht nur verschieden groß sind, sondern auch eine Umkehrung auftreten kann, d. h. daß Glycerin schneller als Harnstoff eindringt. Dadurch fänden die negativen Quotienten bei gewissen p_H -Werten eine plausible Erklärung. Bezüglich der p_H -Abhängigkeit ist natürlich zu beachten, daß der p_H des Zellsaftes keinesfalls gleich dem p_H der Grenzschicht zu setzen ist, obwohl ein Ionengleichgewicht besteht. Zur Messung des p_H der Grenzschichten dürfte bei den jetzigen Methoden keine Möglichkeit bestehen.

Über den Mechanismus der Anelektrolytenquellung kann vorerst nichts ausgesagt werden, da die Verhältnisse noch zu undurchsichtig sind. Eine Diskussion sowie weitere bereits ausgeführte Untersuchungen und die Daten der hier angezeigten werden in einer ausführlichen Mitteilung enthalten sein.

Literaturnachweis.

Heim: Biochem. Z. 291, 88 (1937). — Höfler u. Stiegler: Protoplasma (Berl.) 9, 469 (1930). — Katz: Kolloidchem. Beih. 9. — Kohler: C. r. Soc. Biol. Paris 122, 1050 (1936). — Remesov: Biochem. Z. 218, 173 (1930). — Weber: Österr. bot. Z. 73, 261 (1924).
