

DIE BILDUNG VON PLASMALEMMA (PLASMAHAUT) BEI NITELLA MUCRONATA

Von KARL UMRATH

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Graz)

Mit 4 Textfiguren

Eingegangen am 18. Januar 1932

Seinerzeit habe ich kurz auf die Bildung einer selektiv kationen-permeablen Membran an Elektrodenspitzen, die in *Nitella*-Zellen eingestochen waren, hingewiesen (14). Für eine solche Plasmamembran oder -haut scheint sich jetzt die internationale Bezeichnung Plasmalemma einzubürgern. Seit einem Jahr habe ich an *Nitella* den Erregungsvorgang und die Bildung von Plasmalemma an eingestochenen Elektroden weiter untersucht. In dieser Mitteilung will ich nur die Plasmalemmabildung behandeln und über den Erregungsvorgang, über den demnächst in dieser Zeitschrift berichtet werden soll, nur soviel sagen, als zum Verständnis der Figuren notwendig ist.

Die Methodik ist nur eine weitere Ausbildung der seinerzeit von mir angewandten (14). Es wurden Mikroelektroden von oben her in eine *Nitella*-Internodialzelle eingestochen und die Potentiale dieser Elektroden gegen eine große, in das umgebende Wasser tauchende Elektrode und deren Veränderung nach Reizen registriert. In den Meßpausen tauchte die große Bezugs elektrode in ein nebenstehendes Näpfchen mit 0,1 n KCl-Lösung um ein überflüssiges Ausdiffundieren von KCl in das die *Nitella*-Zelle umgebende Wasser zu vermeiden. Von diesem Wasser wurde vor jeder Reizung etwas entfernt, um die Zelle auch bei stärkerer Vergrößerung gut sichtbar zu machen, nachher wurde wieder Kulturwasser zugegeben. Die Mikroelektroden wurden aus Glas aus freier Hand durch wiederholtes Ausziehen über einem Mikrobrenner hergestellt. Die Spitze der Elektrode wurde unter dem Mikroskop bei etwa 70facher Vergrößerung aus freier Hand mit einem Messer auf die gewünschte Länge, beziehungsweise zum gewünschten Durchmesser gekürzt. Auf diese Weise war es mit fortschreitender Übung leicht, Mikroelektroden mit einem äußeren Spitzendurchmesser bis zu 4 μ herab und mit genügender Festigkeit zum Einstechen in *Nitella*-Zellen herzustellen. Die äußeren Spitzendurchmesser der verwendeten Elektroden waren nie über 30 μ , meist 10 μ und besonders bei stark das Protoplasma schädigender Elek-

trodenfüllung zwischen 4 und 10 μ . In diesen Grenzen war der Elektrodendurchmesser bei indifferenten Füllflüssigkeit ohne besonderen Einfluß und auch einige vergleichsweise verwendete Quarzelektroden ergaben keine abweichenden Resultate. Die Elektroden waren mit wäßrigen Lösungen reiner Salze gefüllt, die große in das umgebende Wasser tauchende und eine der eingestochenen Elektroden mit 0,1 n KCl. Die Ableitung aus den Elektroden erfolgte durch einen chlorierten Silberdraht. In ihrem weiten Ende befand sich zum Schutz vor Verdunstung ein Tropfen Parafinöl und darüber festes Paraffin. Die Halter der Mikroelektroden und die Umschalter zu den Elektrometern waren durch Bernstein isoliert. Eine derart gute Isolation erscheint mir in vielen Fällen unbedingt erforderlich und immer angezeigt. Zur Führung der Elektroden diente ein Mikromanipulator von Zeiß mit mehreren Stativen. Mir scheint für derartige Mikromanipulationen an größeren Objekten das neue Modell des Zeißschen Mikromanipulators wegen des großen Ausmaßes der Grobbewegungen besonders geeignet. Als Elektrometer habe ich zwei Lindemannelektrometer von Spindler & Hoyer, Göttingen, verwendet, welche sich auch bei diesen Untersuchungen bestens bewährt haben. Sie wurden durch je eine Punktlichtlampe beleuchtet und ihre Ausschläge wurden mit einem photographischen Registrierapparat von Edelmann, München, der auch für besonders langsamen Gang eingerichtet war, registriert. Der Faden des Lindemannelektrometers hat einen dicken Teil für Ablesung bei schwacher und einen dünnen für Ablesung bei starker Vergrößerung. Ich habe bei starker Vergrößerung den dicken Teil des Fadens registriert, damit auch bei raschen Elektrometerausschlägen deutliche Kurven verzeichnet werden. Wenn man will, ist es leicht, durch Registrierung des dünnen Fadenteils, viel schmalere Kurvenstriche zu erhalten. Die Zeit ist auf den Kurven durch eine ganze Sekunden anzeigende Jaquetsche Uhr markiert. Zwischen der großen in Wasser tauchenden Elektrode und dem Gehäuse der Elektrometer ließ sich an einem Gefälledraht für Eichausschläge eine Spannung von + 0,1 Volt einschalten. Die Eichausschläge geben zugleich die Koinzidenzmarken für die beiden Elektrometer ab. Zur elektrischen Reizung der Zellen diente ein nach Strommengen geeichtes Induktorium ohne Eisenkern mit variablem Widerstand im Primärkreis und variablem Rollenabstand, welcher letzterer aber kaum benutzt wurde. Mit einer Wippe ohne Kreuz wurden die Schließungsschläge abgeblendet, die Öffnungsschläge der Zelle durch Platinelektroden, die in das Wasser tauchten, zugeleitet. Zur mikroskopischen Beobachtung des Einstechens der Elektroden und später der Plasmaströmung diente ein stereoskopisches Mikroskop nach Greenough von C. Zeiß, mit dem Stativ XB. Durch dieses Stativ gewinnt der Mikroskoptubus, unabhängig vom Tisch und vom Mikromanipulator eine große Beweglichkeit, was für diese Untersuchungen, insbesondere wenn zwei Elektroden in großem Abstand voneinander eingestochen wurden, besonders wertvoll war.

Wenn eine Elektrode in das Protoplasma einer *Nitella*-Zelle eingestochen ist, so kann sich, nach kürzerer oder längerer Zeit, Plasmalemma in verschiedenem Umfang an ihr bilden, was sich durch Beeinflussung des von dieser Elektrode ableitbaren Potentials in verschiedener Weise äußert.

Erstens kann die neue Membran nur die Elektrodenöffnung verschließen, wenigstens ohne allseits Anschluß an das alte,

durchstoßene Plasmalemma zu finden. Für die elektrische Potentialmessung wird in diesem Fall nur das Diffusionspotential an der Spitze der eingestochenen Elektrode durch ein Membranpotential ersetzt. Wegen der hohen Elektrolytkonzentration im Protoplasma und in den Elektroden, 0,1 n oder mehr, sind die Diffusionspotentiale gering, entweder unter oder nur wenig über der Grenze der Nachweisbarkeit. Enthält die Elektrode 0,1 n KCl, so ist auch das Membranpotential gegen Protoplasma nahezu Null und nicht nachweisbar, wie ich schon seinerzeit ausgeführt habe (14). Hingegen macht sich ein Membranpotential bei entsprechender, anderer Elektrodenfüllung stark geltend und diesen Umstand habe ich vor allem zum Nachweis der Plasmalemmabildung ausgenützt, wie die späteren Ausführungen zeigen sollen.

Zweitens kann die neugebildete Membran, die Elektroden spitze umgreifend, einen mehr oder weniger vollkommenen Anschluß an das alte, durchstoßene Plasmalemma finden. In diesem Fall scheint, bei guter Ausbildung des neuen Plasmalemmas, die eingestochene Elektrode vom Protoplasma abgekapselt und nur mehr durch einen kapillaren Spalt entlang des Glases mit dem umgebenden Wasser in Verbindung. Auf solche Umstände kann man schließen, wenn von einer eingestochenen Elektrode bei Erregungsvorgängen der Zelle keine Potentialänderungen, also keine Aktionsströme mehr abgeleitet werden können. In manchen Fällen, insbesondere auch als Vorstufe zu der eben besprochenen Erscheinung, sind die von einer Elektrode ableitbaren Aktionsströme nur reduziert, ebenso das negative Potential der Elektrode, dieses aber meist viel weniger als die Aktionsströme. In solchen Fällen dürfte das neugebildete Plasmalemma erst eine unvollständige Abkapselung der Elektroden spitze bedingen, wobei es vor allem auf das Verhältnis der Widerstände ankommen mag, über welche die Elektrode einerseits direkt mit dem umgebenden Wasser und andererseits durch das Protoplasma mit dem umgebenden Wasser in Verbindung steht. Es steht mit der Deutung der beschriebenen Erscheinung in Übereinstimmung, daß sie besonders an sehr wenig tief eingestochenen Elektroden häufig, beziehungsweise bald nach dem Einstich auftritt, deren Spitzen eben aus räumlichen Gründen besonders leicht abgekapselt werden können, und daß man sie oft beseitigen kann, wenn man die betreffende Elektrode tiefer einsticht oder auch nur etwas auf und ab bewegt, wodurch man offenbar das abkapselnde Plasmalemma zerreißt.

Wie zu erwarten, haben Elektroden mit starker Plasmalemmabildung einen sehr großen Widerstand, etwa 10^8 Ohm oder mehr, kenntlich

an der hierdurch bedingten Empfindlichkeit der Elektrometernadel gegen Influenzwirkungen.

Zieht man eine Elektrode, an der sich Plasmalemma gebildet hat, aus der Zelle heraus, so hat dieselbe zunächst gegenüber der Bezugs elektrode nur ein sehr geringes Potential, das auch nicht wesentlich davon abhängt, in welche Flüssigkeit die beiden Elektroden tauchen. Es scheint an einer eben aus der Zelle gezogenen Elektrode noch Protoplasma zu haften, dessen Diffusionspotential gegen die verschiedenen Lösungen gering ist. Taucht man die Elektrodenspitze für eine halbe Stunde oder länger in 0,1 n KCl, so wird der Protoplasmarest offenbar weg gelöst. In 0,1 n KCl behält die mit Plasmalemma behaftete Elektrode auch jetzt noch gegenüber der Bezugs elektrode das Potential Null, in stärker verdünnten Lösungen nimmt sie jetzt aber ein negatives Potential an, und zwar, wie ich seinerzeit schon ausgeführt habe (14), bei gut ausgebildetem, dichtem Plasmalemma in demselben Ausmaß, wie es bei einer selektiv kationenpermeablen Membran zu erwarten ist. Ich kann dem jetzt noch hinzufügen, daß solche Elektroden in Lösungen mit höherem K-Gehalt positiv gegenüber der Bezugs elektrode sind. Es muß hierfür der Plasmalemmaverschluß allerdings ein dichter sein, als zum qualitativen Nachweis des Einflusses verdünnter Lösungen, da der potentialherabsetzende Einfluß von Rissen in der Membran bei Anwendung konzentrierter Lösungen, wegen deren größerer Leitfähigkeit, größer ist.

An drei Elektroden mit dichtem Plasmalemmaverschluß habe ich diesen durch Eintauchen in verdünnte Salzsäure umgeladen, wodurch diese Elektroden nun umgekehrt wie sonst in Wasser und verdünnten Lösungen positiv, in konzentrierten KCl-Lösungen negativ gegen die große Bezugs elektrode wurden. Eine Elektrode, die in Wasser vorher —132 Millivolt annahm, nahm nach der Umladung +106 Millivolt an, eine andere vorher —88, nachher +64 Millivolt. Die Umladung verschwindet in alkalischer Lösung bald wieder. Eine derartige Umkehr selektiver Kationenpermeabilität in Anionenpermeabilität durch Umladung mit Säure haben Mond (9) für Membranen aus gerbsaurer Gelatine, Rein (12) für die menschliche Haut, Amberson und Klein (1) für die Froschhaut, Sumwalt (13) für das Chorion des *Fundulus*-Eies beschrieben. An den roten Blutkörperchen hat Mond (10) eine Umkehr der normalen selektiven Anionenpermeabilität in Kationenpermeabilität durch Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite festgestellt.

Das von einer *Nitella*-Zelle in einer Elektrode gebildete Plasmalemma behält seine potentialbestimmende Eigenschaft, wenn die Elektrode in

0,1 n KCl tauchend aufbewahrt wird, durch viele Tage bei; länger dauernde Versuche habe ich nicht angestellt. Unter dem Mikroskop ist das Plasmalemma an der Elektrodenspitze als durchsichtiges Häutchen zu sehen.

Um den Einfluß verschiedener Salze auf die Plasmalemma-bildung zu untersuchen, habe ich zwei Elektroden in eine Internodialzelle eingestochen, eine war mit 0,1 n KCl gefüllt, während die andere auch 0,1 n Cl enthielt, um überall den gleichen Potentialsprung zwischen chloriertem Silberdraht und Lösung in der Elektrode zu haben, aber K in höherer Konzentration oder andere Kationen, so daß ein eventuell auftretendes Membranpotential an dieser Elektrode vom anfänglichen Diffusionspotential verschieden war. Diese beiden Ableitungselektroden waren 0,4 bis 1 cm voneinander entfernt und die der Reizkathode nähere bis zu 1 cm von dieser. Unterschwellige Reize, die also keine Erregungsvorgänge auslösen, bewirken Potentialänderungen, die von der Reizstärke abhängig sind und ihren Sitz am Plasmalemma, also zwischen Protoplasma und dem Außenmedium, Wasser, haben (Fig. 3 b). An Zellen, die in Wasser liegen, erfolgen diese Potentialänderungen, die als physikalische Folgen des Reizes aufzufassen sind, an allen Stellen der Zelle in nahezu gleichem Ausmaß und haben gleichen zeitlichen Verlauf. Dies rührt offenbar daher, daß der Widerstand des Plasmalemmas groß gegenüber dem des Protoplasmas und gegenüber dem des umgebenden Wassers ist, so daß jeder Einfluß, der den Potentialsprung im Plasmalemma an einer Stelle reduziert, das zugleich in fast demselben Ausmaß an allen anderen Stellen tut. Da diese physikalischen Folgen des Reizes, wenn sie ein gewisses Ausmaß überschreiten, und je mehr sie es überschreiten nach desto kürzester Latenzzeit, den Erregungsvorgang mit dem Aktionsstrom auslösen, ist es begreiflich, daß an einer in Wasser befindlichen *Nitella*-Zelle immer alle Stellen gleichzeitig erregt werden, daß es also bei ihr keine eigentliche Erregungsleitung gibt. Der Aktionsstrom, der wie der Erregungsvorgang unabhängig von der Intensität des auslösenden Reizes ist, also dem Alles-oder-nichts-Gesetz unterliegt, ist unter normalen Verhältnissen durch das viel größere Ausmaß der Potentialänderung leicht von den Nachwirkungen unterschwelliger Reize zu unterscheiden (Fig. 3). Bei der vorliegenden Untersuchung war es notwendig, nicht nur die mit verschiedenen Elektroden ableitbaren elektrischen Spannungen sondern auch die Aktionströme zu registrieren, weil man eine beginnende Abkapselung einer Elektrode durch Plasmalemma-bildung, die an das alte durchstoßene Plasmalemma anschließt, nur an der Verkleinerung des mit dieser Elektrode ableitbaren Aktionsstroms einigermaßen

sicher erkennen kann. Für ein Urteil über den Einfluß der Elektrodenflüssigkeit auf die Plasmalammabildung sind aber gerade diejenigen Fälle wichtig, bei denen keine Abkapselung der Elektrode anzunehmen ist, denn eine solche kommt bei jeder Elektrodenfüllung hier und da vor und scheint besonders bei wenig tiefem Einstich und jungen Internodialzellen häufig.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 n KNO_3 und 0,1 n KCl. 2 Versuche. Durch $1\frac{1}{2}$ bzw. 2 Tage waren die Potentiale und die Aktionsströme beider Elektroden gleich. Der erste Versuch wurde abgebrochen, weil die Zelle abstarb, der zweite, mit denselben Elektroden ausgeführte, weil die 0,1 n KCl-Elektrode abgekapselt wurde. Nach dem Herausziehen aus der Zelle und längerem Verweilen in 0,1 n KCl nahm die Nitrat-elektrode in Wasser gegenüber der großen Bezugs-elektrode — 23 Millivolt an. Hieraus ergibt sich, da dichte Membranen unter solchen Verhältnissen — 100 bis — 200 Millivolt bedingen, daß der selektiv kationen-permeable Verschuß nur sehr unvollkommen war, was damit übereinstimmt, daß er gegenüber dem Protoplasma mit seiner großen Leitfähigkeit keinen nachweisbaren Potentialsprung erzeugt hatte.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 n $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (Kaliumoxalat) und 0,1 n KCl. 4 Versuche. Das Oxalat fördert die Plasmalemmabildung so stark, daß in einem Fall die betreffende Elektrode schon während des Einstiches in einem anderen Fall innerhalb einer halben Stunde nach dem Einstich zum völligen Verschwinden der Aktionsströme an der Oxalatelektrode abgekapselt wurde. Ein so rasches, vollständiges Abkapseln habe ich an Kaliumchloridelektroden nie beobachtet. Auch in diesen beiden Zellen verhielten sich die eingestochenen Kaliumchloridelektroden normal. Im dritten Versuch war die Plasmalemmabildung $2\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Einstich der Oxalatelektrode daran kenntlich, daß das negative Potential dieser Elektrode verglichen mit dem der anderen zunahm, ohne daß der Aktionsstrom zunahm, während bis zu dieser Zeit nicht nur die Aktionsströme, sondern auch die Potentiale beider Elektroden nahezu gleich waren. Zugleich nahm, wie auch in den beiden zuerst besprochenen Versuchen, der Widerstand der Oxalatelektrode stark zu, was an der einsetzenden Influenzempfindlichkeit des Elektrometers kenntlich war. Im vierten Versuch war die Plasmalemmabildung an der Oxalatelektrode schon an der ersten registrierten Kurve, 50 Minuten nach dem Einstich dieser Elektrode, an deren hohem Potential zu erkennen, und dieser Zustand blieb durch mehrere Stunden bis zum Abbruch des Versuches erhalten.

Gegenüber 0,1 n KCl ist bei unvollkommen selektiv kationenpermeabler Membran bei den Kaliumchloridelektroden 0, bei den Oxalatelektroden, wegen ihrer höheren K-Konzentration, —44 Millivolt zu erwarten. Tatsächlich ergaben nach dem Herausziehen aus der Zelle und längerem Stehen in 0,1 n KCl, in den drei Versuchen, in denen diese Bestimmungen ausgeführt wurden, die Kaliumchloridelektroden 0,0 und —9, die Oxalatelektroden —33, —27 und —32 Millivolt. Für Wasser läßt sich wegen des schlecht definierten, geringen Kationengehaltes das Potential an einer selektiv kationenpermeablen Membran nicht berechnen, es müßte aber wieder das Potential der Oxalatelektroden um 44 Millivolt negativer sein als das der anderen. Der Unterschied war viel größer, weil nur die Oxalatelektroden einigermaßen dichte Membranen hatten. Die Potentiale der Kaliumchloridelektroden waren —18, —36 und —109, die der Oxalatelektroden —110, —212 und —164 Millivolt. Schließlich wurden den eingestochen gewesenen Elektroden die Spitzen abgebrochen, um den Plasmalemmaverschluss zu entfernen und die nun auftretenden Diffusionspotentiale gemessen. Die Kaliumchloridelektroden ergaben in 0,1 n KCl 0,0 und —5, in Wasser 0, —2 und —9 Millivolt, also, wie zu erwarten, von 0 sehr wenig verschiedene Potentiale. Die Oxalatelektroden ergaben in 0,1 n KCl —10, —10 und —9, in Wasser —43, —39 und —41 Millivolt. Die Diffusionspotentiale sind wesentlich geringer als die entsprechenden oben angeführten Membranpotentiale, so daß diese nicht etwa durch Diffusionspotentiale vorgetäuscht sein können.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 n K_2CO_3 und 0,1 n KCl. 3 Versuche. Auch Karbonat fördert die Plasmalemmaabildung stark, wenn es hierin auch dem Oxalat vielleicht etwas nachsteht. Die Membranbildung war an dem bei gleichem Aktionsstrom höheren Potential der Karbonatelektrode in zwei Versuchen schon $1\frac{1}{4}$ und 1 Stunde und im dritten Versuch wahrscheinlich $\frac{1}{2}$, sicher 4 Stunden nach dem Einstich kenntlich. In Fig. 1 ist ein Teil eines Versuches wiedergegeben.

Ich gebe jetzt wieder die Potentiale der Elektroden nach dem Herausziehen aus der Zelle und längerem Stehen in 0,1 n KCl an. Es sind hier dieselben Potentiale zu erwarten, wie in den Oxalatversuchen, also in 0,1 n KCl für die Kaliumchloridelektroden 0 und für die Karbonatelektroden —44 Millivolt. Gemessen wurde an den Kaliumchloridelektroden 0,0 und 0 Millivolt, an den Karbonatelektroden —38, —25 und —19 Millivolt. In Wasser ergaben die Kaliumchloridelektroden —25, —38 und —96, die Karbonatelektroden —140, —160 und —161 Millivolt. Nach dem Abbrechen der Elektrodenspitzen waren die Potentiale in 0,1 n

KCl bei den Kaliumchloridelektroden +1, +1 und 0, bei den Karbonatelektroden —13, —7 und —9 Millivolt, in Wasser bei den Kaliumchloridelektroden 0, +2 und —2, bei den Karbonatelektroden —25, —12 und —8 Millivolt. Die Verhältnisse liegen also bei den Karbonatelektroden ganz ähnlich wie bei den Oxalatelektroden und beweisen die starke Plasmalemmaabildung an beiden.

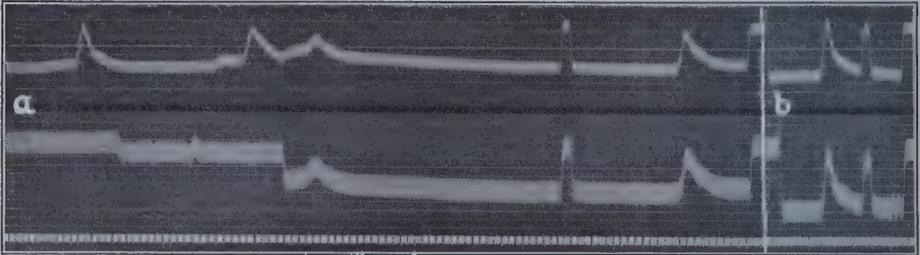


Fig. 1. Internodialzelle von *Nitella mucronata*, 24. XI. 31. Oben registrierte Spannung von der 0,1 n KCl-Elektrode, unten von der 0,1 n KCl + 0,5 n K_2CO_3 -Elektrode, darunter Zeitmarken in Sekunden. Zu Beginn und zu Ende jeder Aufnahme ist die Nullstellung der Elektrometer bei abgeschalteten Elektroden ersichtlich. a) 11^h 28. Zunächst wurde nur das oben registrierte Elektrometer mit der schon seit längerer Zeit eingestochenen Kaliumchloridelektrode verbunden. Durch Eintauchen der Karbonatelektrode in das die Zelle umgebende Wasser wurde ein Erregungsvorgang ausgelöst, dessen Aktionsstrom oben registriert ist. Hierauf wurde die Karbonatelektrode zum Elektrometer geschaltet, so daß ihr Diffusionspotential gegen Wasser erscheint. Diese Elektrode wurde nun unmittelbar an die Zelle herangebracht und ihr von außen angedrückt, was den zweiten der oben registrierten Erregungsvorgänge auslöste. Darauf erfolgte der Einstich der Karbonatelektrode, der, weil im relativen Refraktärstadium der vorherigen Erregung, nur einen geringen Erregungsvorgang mit langer Latenzzeit auslöste. Eine Eichkurve von 0,1 Volt dient zugleich, wie auch in allen folgenden Aufnahmen, als Koinzidenzzeichen für beide Kurven. Schließlich ein Aktionsstrom, ausgelöst durch einen Induktionsöffnungsschlag, zugeführt durch der Zelle außen anliegende Platinelektroden. Der Aktionsstrom auf beiden Kurven von gleichem Ausmaß. Das Potential der Elektroden, kenntlich beim Abschalten derselben, am Schluß der Aufnahme, unten, an der Karbonatelektrode, nur wenig größer, und zwar um das Diffusionspotential des Kaliumkarbonates gegen das Protoplasma, etwa gleich dem Diffusionspotential gegen 0,1 n KCl. (Das zu Anfang der Aufnahme ersichtliche Diffusionspotential dieser Elektrode gegen Wasser ist beträchtlich größer.) 16° C. b) 12^h 20. Aktionsstrom, ausgelöst durch einen elektrischen Reiz, auf beiden Kurven von gleichem Ausmaß. Das zu Beginn und zu Ende der Aufnahmen ersichtliche Potential der Elektroden jetzt stärker verschieden als bei a, da durch Membranbildung an der Karbonatelektrode ein zusätzliches Potential zwischen dieser Elektrode und dem Protoplasma entstanden ist, etwa gleich dem Membranpotential gegen 0,1 n KCl. Eichung 0,1 Volt. 16° C.

Es ist naheliegend, anzunehmen, daß für die Plasmalemma-bildung die Entstehung eines Niederschlages, in den besprochenen Fällen von CaC_2O_4 oder CaCO_3 , wesentlich ist, denn es ist von den Traubescchen Zellen bekannt, daß Niederschläge in kolloider Form semi-permeable Membranen bilden können [Meigs (6), dort weitere Literatur] und für die Ferrozyankupfermembran geht aus Messungen Beutners [zitiert nach Michaelis (7)] hervor, daß sie selektiv kationenpermeabel ist. Die beiden nächsten Versuchsgruppen zeigen die Förderung der Plasmalemma-bildung durch KOH. CaO ist zu leicht löslich, um durch Niederschlagsbildung Plasmalemma zu erzeugen, da, wie wir noch sehen werden, Zitrat mit einem ähnlichen Löslichkeitsprodukt des Ca-Salzes bei *Nitella* nicht zur Plasmalemma-bildung führt. Das Kaliumhydroxyd wirkt also jedenfalls dadurch, daß es alkalische Reaktion erzeugt, wobei CaCO_3 ausfällt. Dabei können die Bestandteile im Protoplasma schon als Bikarbonat vorhanden gewesen sein oder es kann, was ich für wahrscheinlich halte, das eindiffundierende Kaliumhydroxyd im Protoplasma auch noch CO_2 -Bildung als pH-Regulation auslösen.

Elektrodenfüllung 0,1n KCl + 0,5n KNO_3 + 0,02n KOH und 0,1n KCl. 3 Versuche. In einem Versuch wurde die erste Aufnahme 15 Stunden nach dem Einstich der Elektroden gemacht; bei gleichen Aktionsströmen war das negative Potential der KOH enthaltenden Elektrode deutlich größer, Plasmalemma also schon gebildet. In den beiden anderen Versuchen hat die Plasmalemma-bildung zu einer Abkapselung der KOH enthaltenden Elektrode geführt, beginnend $\frac{3}{4}$ bzw. 28 Stunden nach dem Einstich. Nach dem Herausziehen der Elektroden waren die Potentiale in 0,1n KCl bei den Kaliumchloridelektroden immer 0, bei den Nitrat-Kaliumhydroxydelektroden —18, —20 und —13 Millivolt; diese Potentiale bleiben gegenüber den jetzt zu erwartenden —45 Millivolt stärker zurück, als die der bisher besprochenen Versuchsgruppen. In Wasser waren die Potentiale der Kaliumchloridelektroden 0, —84 und —55, die der Nitrat-Kaliumhydroxydelektroden —86, —102 und —93 Millivolt. Nach alledem begünstigt die Zugabe von 0,02n KOH die Plasmalemma-bildung, aber in weit geringerem Maß als 0,5n $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ oder K_2CO_3 . Die Diffusionspotentiale waren unmerklich gering.

Elektrodenfüllung 0,1n KCl + 0,1n KOH und 0,1n KCl. Nach dem Einstich der Kaliumhydroxydelektrode sinkt das negative Potential der Zelle auf einen geringen Betrag ab und es treten meist rhythmische Erregungsvorgänge mit stark reduzierten Aktionsströmen auf; die Zelle wird also beträchtlich geschädigt. Auch wenn der Spitzendurchmesser

der Elektrode sehr gering ist, sterben die meisten Zellen einige Zeit nach dem Einstich einer frischen Elektrode ab. Verwendet man dieselbe Elektrode dann für andere, frische Zellen, so erholt sich schon die zweite oder dritte Zelle einige Zeit nach dem Einstich, so daß sich nach Reizen von beiden Elektroden ganz normale Aktionsströme ableiten lassen (Fig. 2). Aus der meist bald auftretenden, in Fig. 2 allerdings kaum kenntlichen, hohen Influenzempfindlichkeit¹⁾ des mit der Kaliumhydroxydelektrode verbundenen Elektrometers ist zu ersehen, daß sich an dieser Elektrode ein hoher Widerstand, also ein dichter Plasmalemmabelag, ausbildet. Dieser dürfte etwa demjenigen einer Karbonatelektrode gleichkommen und dem einer Oxalatelektrode nur wenig nachstehen. Bei einer derartigen Membran wäre an der Kaliumhydroxydelektrode, wegen ihres höheren K-Gehaltes, ein höheres negatives Potential zu erwarten, als an der Kaliumchlorid-elektrode. Tatsächlich ist dieses Potential aber kleiner, oft auffallend klein und kann im Verlaufe einiger Stunden stark zu- oder abnehmen (siehe Fig. 2). Da die Aktionsströme voll erhalten sind und da diese an der Grenzfläche zwischen Protoplasma und Außenmedium, also im alten Plasmalemma ablaufen, muß sich die Elektrode innerhalb dieser Grenzfläche befinden. Ein anderes, gegenüber dem Protoplasma positives Potential kann hier nur dem Zellsaft zukommen und gewisse Umstände sprechen tatsächlich dafür, daß die Kaliumhydroxydelektroden wenigstens teilweise in den Zellsaft hineingeraten. Alle Elektroden werden meist tiefer eingestochen als der Protoplasmaabelag der Zelle vor dem Einstich reicht. Es bildet sich aber schon vor dem eigentlichen Einstich, durch den Druck der Elektrodenspitze auf die Zellwand, oder beim Einstich selbst offenbar ein mehr oder weniger gelatinierter Plasmappropf, der die Elektrode umgibt, so daß sie, auch tief eingestochen, immer im Protoplasma bleibt. Mit der Plasmalemmaabildung hat diese Plasmaanstauung wahrscheinlich nichts zu tun, und jedenfalls sind die beiden Vorgänge nicht identisch. Wenn es sich nun um eine Kaliumhydroxydelektrode handelt, so dürfte der die Elektrode zunächst umgebende Plasmappropf durch das aus derselben diffundierende Kaliumhydroxyd verflüssigt und dem strömenden Protoplasma einverleibt werden. Je nachdem wieviel von dem ursprünglichen Koagulationspfropf verflüssigt wird und ob das neue Plasmalemma die Elektrodenspitze mehr oder weniger kappenförmig umgibt und so in das Protoplasma zurückreicht, ist das Potential der Kaliumhydroxydelektrode näher dem des Protoplasmas oder näher dem

¹⁾ Kenntlich an Fig. 4 meiner in Protoplasma erscheinenden Arbeit: Der Erregungsvorgang bei *Nitella mucronata*.

des Zellsaftes. Eine solche Verflüssigung bei alkalischer Reaktion wurde schon von Gray (2, Kap. 6) für die Zellzwischen substanz beschrieben. Es dürfte sich in diesen beiden Fällen um Gelbildungen ähnlicher Art handeln, die von der durch alkalische Reaktion begünstigten Plasmalemma bildung wesentlich verschieden sind. Auf der verflüssigenden Wirkung des ausdiffundierenden Kaliumhydroxyds dürfte auch die oft auffallend intensive Plasmaströmung in Zellen mit Kaliumhydroxydelektroden beruhen.

Im ganzen zeigen die Versuche mit 0,1 n KOH + 0,1 n KCl-Elektroden, außer starker Plasmalemma bildung, die auch an den aus der Zelle herausgezogenen Elektroden kenntlich ist, daß der Zellsaft gegenüber dem Protoplasma elektrisch positiv ist und daß die Grenzfläche gegen den

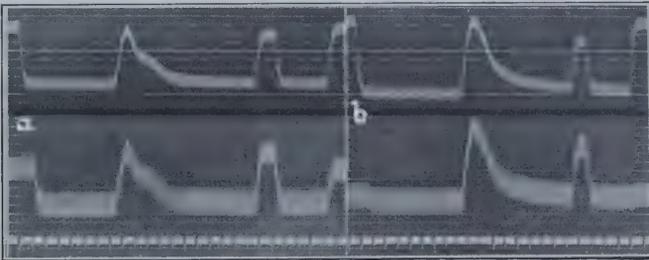


Fig. 2. Internodialzelle von *Nitella mucronata*, 28. VIII. 31. Die schon einmal benutzten Elektroden wurden um 2^h 48 eingestochen. Oben registriert Spannung der 0,1 n KCl-Elektrode, unten der 0,1 n KCl + 0,1 n KOH-Elektrode, darunter Zeitmarken in Sekunden. Von den der Zelle von außen anliegenden Platinreizelektroden war die den Ableitungselektroden nähere, als Kathode verwendete, 0,77 cm von der oben registrierten und 1,51 cm von der unten registrierten Elektrode entfernt. a) 3^h 21. Aktionsstrom, durch elektrischen Reiz ausgelöst. Eichung 0,1 Volt. 17,5° C. b) 6^h 16. Ebenso. Bei gleichen Aktionsströmen ist das Potential der KOH enthaltenden Elektrode in beiden Aufnahmen geringer als das der anderen, bei b fast 0; diese Elektrode reicht offenbar wenigstens teilweise in den Zellsaft, der gegen das Protoplasma positiv ist, ohne daß an der Grenzfläche Protoplasma-Zellsaft ein Aktionsstrom abläuft.

Zellsaft keinen Beitrag zum Aktionsstrom liefert, denn dieser ist an der 0,1 n KOH + 0,1 n KCl-Elektrode gegenüber dem an der 0,1 n KCl-Elektrode gar nicht verändert.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 mol K₂HPO₄ und 0,1 n KCl. 2 Versuche. An den Phosphatelektroden war eine starke Plasmalemma bildung, das eine Mal schon bei der ersten Aufnahme, 1¹/₂ Stunden nach dem Einstich, das andere Mal 5 Stunden nach dem Einstich, an dem hohen negativen Potential und an der durch den hohen Widerstand bedingten Influenzempfindlichkeit kenntlich. Fig. 3 gibt ein Beispiel.

Auch die Potentiale der Elektroden, nach dem Herausziehen derselben aus der Zelle, in 0,1 n KCl und in Wasser deuten auf starke Plasmalemmabildung. Dem sekundären Phosphat kommt allerdings eine alkalische Reaktion zu, welche, wie oben besprochen, durch die Bildung eines CaCO_3 -Niederschlages die Plasmalemmabildung fördern kann. Es mag vielleicht eine Mitfällung von CaHPO_4 eine gewisse Rolle spielen, daß dieses allein aber bei der angewandten K_2HPO_4 -Konzentration nicht ausreicht, scheint aus der nächsten Versuchsreihe hervorzugehen.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 mol K_2HPO_4 + 0,5 mol KH_2PO_4 und 0,1 n KCl. 4 Versuche. Auf Förderung der Plasma-

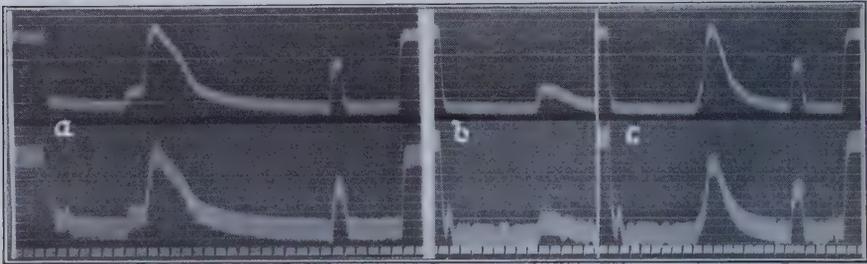


Fig. 3. Internodialzelle von *Nitella mucronata*, 20. X. 31. Elektroden um 10^h 36 eingestochen. Oben registriert Spannung der 0,1 n KCl-Elektrode, unten die der 0,1 n KCl + 0,5 mol K_2HPO_4 -Elektrode, darunter Zeitmarken in Sekunden. Von den der Zelle von außen anliegenden Reizelektroden war die den Ableitungselektroden nähere, als Kathode verwendete, 0,56 cm von der oben registrierten und 0,86 cm von der unten registrierten Elektrode entfernt. a) 12^h 27. Aktionsstrom, elektrisch ausgelöst mit Reizstärke 2, Eichung 0,1 Volt. 18,5° C. Aktionsströme auf beiden Kurven gleich, Potential an der Phosphatelektrode nur um das geringe Diffusionspotential des Phosphates gegen das Protoplasma größer. (Bei dem Vergleich ist die, an den Eichkurven kenntliche, etwas verschiedene Empfindlichkeit der beiden Elektrometer zu berücksichtigen.) b) 22. X. 9^h 15. Reizstärke 2 unwirksam; man erkennt die direkte, potentialherabsetzende Wirkung des elektrischen Reizes, welche auch in a und c während der Latenzzeit, vor dem Aktionsstrom zu erkennen ist. c) 9^h 20. Aktionsstrom, elektrisch ausgelöst durch Reizstärke 2,6, Eichung 0,1 Volt, 18,5° C. Der Aktionsstrom wieder auf beiden Kurven gleich, das Potential aber jetzt an der Phosphatelektrode viel größer, was die Membranbildung an dieser Elektrode anzeigt.

lemmabildung durch das Phosphatgemisch lassen weder die Potentiale der eingestochenen, noch die der aus der Zelle herausgezogenen und in verschiedenen Lösungen geprüften Elektroden schließen. Wie es auch sonst meist der Fall war, mußten die Versuche wegen der Abkapselung

einer Elektrode durch Plasmalemma abgebrochen werden, doch trat diese jetzt an der Phosphatelektrode im Durchschnitt nicht früher ein als an der anderen. Die Beurteilung der Elektrodenpotentiale wurde etwas durch das relativ große Diffusionspotential der Phosphatelektroden erschwert.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 n KF und 0,1 n KCl. 4 Versuche. Es ergaben sich keine sicheren Anzeichen einer Plasmalemmabildung durch das Fluorid. Allerdings war die Elektrode, die schließlich durch Plasmalemma abgekapselt wurde, immer die Fluorid-elektrode, und in drei von den vier Fällen erfolgte diese Abkapselung bald. Eine gewisse Förderung der Plasmalemmabildung durch 0,5 n KF erscheint daher wahrscheinlich.

Elektrodenfüllung 0,1 n KCl + 0,5 n $K_3C_6H_5O_7$ (Kaliumzitrat) und 0,1 n KCl. In den drei Versuchen deutet nichts auf eine Förderung der Plasmalemmabildung durch das Zitrat. Auch die schließliche Abkapselung durch Plasmalemma trat an der Zitratelektrode nicht öfter auf als an der anderen und sie erfolgte spät.

Die folgende Zusammenstellung soll für die untersuchten Anionen den Zusammenhang zwischen der Förderung der Plasmalemmabildung und der Bildung eines Kalziumniederschlags zeigen.

Anion	Kon- zentration in Ca-Äqui- valenten	Fördert die Plasmalemmabildung	Zur Niederschlags- bildung erforder- liche Konzentration in Molen
Oxalat	$\frac{1}{4}$	sehr stark	$1,5 \cdot 10^{-4}$
Karbonat	$\frac{1}{4}$	stark	$5 \cdot 10^{-4}$
Fluorid.	$\frac{1}{4}$	schwach (nicht ganz sicher)	$2-8 \cdot 10^{-4}$
Sekundäres Phosphat	$\frac{1}{2}$	kaum oder nicht	$2 \cdot 10^{-3}$
Zitrat	$\frac{1}{4}$	nicht	etwa 10^{-1}

Es ist möglich, daß der Kalziumgehalt des Protoplasmas ein solcher ist, daß bei der angewandten Fluoridkonzentration ein CaF_2 -Niederschlag nur in geringer Menge entsteht. Da aber, wie Meigs (6) hervorhebt, eine semipermeable Membran nur durch einen kolloiden Niederschlag gebildet wird, muß es noch von Einfluß sein, ob die gebildeten Substanzen in Gegenwart der Plasmakolloide mehr oder weniger dazu neigen kolloid auszufallen.

Elektrodenfüllung 0,1 n CaCl_2 und 0,1 n KCl . 5 Versuche. Da an der selektiv kationenpermeablen Membran 0,1 n Ca weniger wirksam ist als 0,1 n K , und somit bei der Plasmalemmabbildung an der Kalziumelektrode ein Potential entsteht, das dem am alten, die Zellgrenzfläche bildenden Plasmalemma entgegengerichtet ist, äußert sich die Plasmalemmabbildung an dieser Elektrode in einer Herabsetzung ihres negativen Potentials bei gleichbleibenden Aktionsströmen. So war in einem Versuch nach $3\frac{1}{2}$ Tagen eine starke Plasmalemmabbildung zu erkennen, in einem anderen nach $1\frac{3}{4}$ Tagen eine schwache und nach 3 Tagen eine starke. Einzelne Aufnahmen aus diesem Versuch sind in Fig. 4 wiedergegeben.

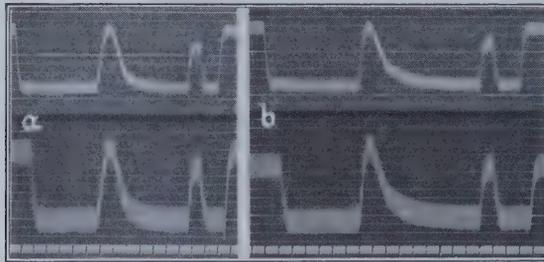


Fig. 4. Internodialzelle von *Nitella mucronata*, 15. VIII. 31. Oben registriert Spannung der 0,1 n KCl -Elektrode, $4^{\text{h}} 05$ eingestochen, unten die der 0,1 n CaCl_2 -Elektrode, $4^{\text{h}} 01$ eingestochen. Von den der Zelle von außen anliegenden Reizelektroden war die den Ableitungselektroden nähere, als Kathode verwendete, 0,44 cm von der oben registrierten und 0,93 cm von der unten registrierten Elektrode entfernt. Zeitmarken in Sekunden. a) $5^{\text{h}} 38$. Der durch einen elektrischen Reiz ausgelöste Aktionsstrom an beiden Elektroden gleich, ebenso das Potential der Elektroden. Eichung 0,1 Volt. 22°C . b) 18. VIII. $6^{\text{h}} 53$. Aktionstrom wie bei a, aber das Potential der CaCl_2 -Elektrode durch Membranbildung geringer. Eichung 0,1 Volt. 20°C .

Die Abkapselung einer Elektrode gegen die Zelle erfolgte in vier von den fünf Versuchen an der Kalziumelektrode früher als an der Kaliumelektrode. Die Plasmalemmabbildung der *Nitella*-Zelle wird also durch 0,1 n CaCl_2 gefördert, allerdings nur in geringem Maß.

Ich habe auch versucht, die Plasmalemmabbildung durch Substanzen, die mit K einen Niederschlag geben, zu fördern. Ich habe hierzu neben der 0,1 n KCl -Elektrode in drei Versuchen noch eine Elektrode verwendet, die 0,1 n NaCl enthielt und an Na_2SiF_6 gesättigt war, in drei Versuchen eine, die neben 0,1 n NaCl verdünntes Natriumkobaltnitritreagens, 0,5 n

$\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, enthielt. Nie waren Anzeichen einer Plasmalemmaabildung zu bemerken. Abgesehen davon, daß durch eventuelle kristalline Niederschläge keine Plasmalemmaabildung zu erwarten ist, ergab Na_2SiF_6 auch im Reagenzglas mit KCl keinen deutlichen Niederschlag; wahrscheinlich ist die Löslichkeit des K-Salzes nicht viel geringer als die des Na-Salzes. Das Kobalt-Nitritreagens schädigt die Zellen stark. Zudem mag es, wenn das Plasmalemma eine durch Eiweißstoffe oder Lipide verkittete Membran darstellt, diese angreifen, denn es hat sogar den Paraffinverschluß am weiten Ende der Elektrode angegriffen.

Nur nebenbei will ich bemerken, daß *Spirogyra*- und *Helodea*-Zellen viel stärker zur Abkapselung eingestochener Elektroden neigen, als *Nitella*-Zellen. Dies geht soweit, daß mir einwandfreie Potentialmessungen an den erstgenannten Pflanzen aus diesem Grund noch nicht möglich waren. Der Unterschied mag zum Teil darauf beruhen, daß man in kleine Zellen nicht so tief einstechen kann, wie in *Nitella*-Internodialzellen, es mag aber *Nitella* auch, vielleicht wegen eines geringen Kalziumgehaltes, überhaupt schwerer Plasmalemma bilden.

Wie weit die Plasmalemmaabildung mit sonst schon beschriebenen Membranbildungen übereinstimmt oder von ihnen verschieden ist, läßt sich noch nicht mit Sicherheit sagen. Es erweckt aber den Anschein, als ob die von Heilbrunn (3) beschriebene „surface precipitation reaction“, wegen der ganz anderen Rolle, die das Kalzium bei derselben spielt, etwas wesentlich verschiedenes wäre. Wenn dem so ist, so kann man aus der bloßen Tatsache, daß Kalzium eine Membranbildung fördert, wofür viele Beispiele bei Heilbrunn (3) zusammengestellt und neue bei Jost (4) und bei Weber (15) zu finden sind, nicht ersehen, ob es sich um Heilbrunns Reaktion oder um die hier beschriebene Plasmalemmaabildung handelt. Auch die von Gray (2, Kap. 6) als Gelbildung beschriebene Membranbildung und Bildung von Zellzwischen-substanz, welche auch durch Ca und Mg gefördert werden, dürften von der Plasmalemmaabildung, schon wegen des erwähnten, verschiedenen Alkalieinflusses, verschieden sein. Gray meint aber selbst (2, S. 118), dem die Zellwand bildenden Gel müsse noch etwas eingelagert sein, was die Semipermeabilität bedingt und dies eben dürfte der für das Plasmalemma charakteristische kolloide Niederschlag sein. Ob es hier scharfe Grenzen gibt, etwa Zellzwischen-substanz ohne eingelagerten Niederschlag und ohne Semipermeabilität oder Plasmalemma ohne Eiweißgel, so daß ein Niederschlag höchstens durch Lipide gebunden wäre, können erst weitere Untersuchungen zeigen.

Zusammenfassung

Für die Plasmalemmabildung erscheint die Entstehung eines Niederschlags wesentlich, so daß das Plasmalemma, wenigstens in mancher Hinsicht, der Niederschlagsmembran einer Traubeschen Zelle zu vergleichen ist.

Literaturnachweise

1. Amberson, W. R. and H. Klein, The influence of pH upon concentration potentials across the skin of the frog. *J. of Gen. Physiol.* **11**, 823—841, 1928.
2. Gray, J., *A Text-Book of Experimental Cytology.* Cambridge 1931.
3. Heilbrunn, L. V., *The colloid chemistry of protoplasm.* Protoplasma-Monographien 1, Berlin 1928, Kap. 13.
4. Jost, L., Einige physikalische Eigenschaften des Protoplasmas von *Valonia* und *Chara.* *Protoplasma* **7**, 1—22, 1929.
5. Matsuo, T., Neue Versuche zur Theorie der bioelektrischen Ströme. *Pflüg. Arch.* **200**, 132—149, 1923.
6. Meigs, E. B., The osmotic properties of calcium and magnesium phosphates in relation to those of living cells. *Amer. J. of Physiol.* **38**, 456—489, 1915.
7. Michaelis, L., *Die Wasserstoffionenkonzentration I,* Berlin 1922, S. 183 ff.
8. —, Contribution to the theory of permeability of membranes for elektrolytes. *J. of Gen. Physiol.* **8**, 33—59, 1928.
9. Mond, R., Untersuchungen zur Theorie der Entstehung bioelektrischer Ströme. *Pflüg. Arch.* **203**, 247—261, 1924.
10. —, Umkehr der Anionenpermeabilität der roten Blutkörperchen in eine elektive Durchlässigkeit für Kationen. Ein Beitrag zur Analyse der Zellmembran. *Pflüg. Arch.* **217**, 618—630, 1927.
11. — und F. Hoffmann, Untersuchungen an künstlichen Membranen, die elektiv anionenpermeabel sind. *Pflüg. Arch.* **220**, 194—202, 1928.
12. Rein, H., Die Gleichstromleitereigenschaften und elektromotorischen Kräfte der menschlichen Haut und ihre Auswertung zur Untersuchung der Funktionszustände des Organs. I. Die elektromotorischen Kräfte der Haut und deren Ionendurchlässigkeit. *Zeitschr. f. Biol.* **85**, 195—216, 1927.
13. Sumwalt, M., Potential differences across the corion of the *Fundulus* egg. *Biol. Bull.* **56**, 193—214, 1929.
14. Umrath, K., Potentialmessungen an *Nitella mucronata* mit besonderer Berücksichtigung der Erregungserscheinungen. *Protoplasma* **9**, 576—597, 1930.
15. Weber, F., Plasmolyse und „surface precipitation reaction“. *Protoplasma* **16**, 522—530, 1932.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Arbeiten aus dem Zoologischen Institut zu Graz](#)

Jahr/Year: 1930

Band/Volume: [14](#)

Autor(en)/Author(s): Umrath Karl

Artikel/Article: [Die Bildung von Plasmalemma \(Plasmahaut\) bei Nitella Mucronata 173-188](#)