©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	**Vol. 29**	Fasc. 2	255–261	17. 11. 1989

Einfluß von Triethylblei auf Plasmolyse und Wasserpermeabilität von Zwiebelepidermiszellen

Von

Helmut GUTTENBERGER, Gregory EGGER und Dieter GRILL*)

Mit 4 Abbildungen

Eingegangen am 18. Februar 1989

Key words: water permeability, plasmolysis, triethyl lead, *Allium cepa*.

Summary

GUTTENBERGER H., EGGER G. & GRILL D. 1989. Influence of Triethyl lead on the water permeability of epidermis cells of onion. – Phyton (Austria) 29 (2): 255–261, with 4 figures. – German with English summary.

Triethyl lead-chloride (TriEL) has been investigated on its efficiency on the plasmolysis and the water permeability of onion epidermis cells. Both treated and untreated epidermis cells showed biconvex plasmolysis form. The time of plasmolysis and the water permeability were significantly influenced by TriEL with concentrations of 10^{-5} to 10^{-7} M. 12 hours influence of 10^{-3} M TriEL is lethal, 10^{-4} M TriEL sublethal.

Zusammenfassung

GUTTENBERGER H., EGGER G. & GRILL D. 1989. Einfluß von Triethylblei auf Plasmolyse und Wasserpermeabilität von Zwiebelepidermiszellen. – Phyton (Austria) 29 (2): 255–261, mit 4 Abbildungen. – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Triethylblei-Chlorid (TriEL) wurde auf seinen Einfluß auf Plasmolyse und Wasserpermeabilität anhand von Zwiebelepidermiszellen geprüft. Während die Plasmolyseform nicht beeinflußt wurde, wurden die Plasmolysezeiten und die Wasserpermeabilität stark verändert: Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-5} M TriEL beschleunigten den Wassereintritt signifikant. Eine zwölfstündige Einwirkung von 10^{-3} M TriEL ist letal, 10^{-4} M subletal.

---

*) Prof. Dr. D. GRILL, Mag. Dr. H. GUTTENBERGER, Mag. G. EGGER, Institut für Pflanzenphysiologie, Karl-Franzens-Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Einleitung

Triethylblei (TriEL), eine organische Bleiverbindung, die aus dem dem Benzin beigefügten Tetraethylblei entstehen kann (FAULSTICH & STOURNARAS 1984) hat sich als äußerst schädigend für tierische und pflanzliche Zellen erwiesen (siehe z. B. RÖDERER 1979, 1984, FAULSTICH & STOURNARAS 1984, STOURNARAS & al. 1984, FAULSTICH & al. 1987). Weil TriEL sowohl wasser- als auch lipidlöslich ist, dringt es äußerst rasch durch die pflanzliche Kutikula und auch durch die Zellmembranen (STOURNARAS & al. 1984). Am besten untersucht wurde die Wirkung auf die Mikrotubuli. Konzentrationen von 5×10^{-5} M verhindern nicht nur eine Polymerisation des Tubulins, sondern auch bereits gebildetes Tubulin wird zerstört (FAULSTICH & STOURNARAS 1984). Im unmittelbaren Zusammenhang damit stehen die von RÖDERER 1979 beschriebenen Mitosestörungen durch Hemmung des Spindelapparates. Ferner wird von Auswirkungen auf Mitochondrien und auf ATPasen berichtet. Auf Zellkulturen wirkt TriEL hoch toxisch (STOURNARAS & al. 1984). HAGER & al. 1987 konnten zeigen, daß TriEL auch das Plasmalemma und den Tonoplasten bei unterschiedlichen Konzentrationen beeinflußt.

In der vorliegenden Arbeit wird von den Veränderungen der Wasserpermeabilität, des Plasmolyse- und Deplasmolyseverhaltens von *Allium cepa*-Epidermiszellen nach Behandlung mit TriEL berichtet.

Material und Methode

Triethylblei (TriEL), Ventron 57127, wurde in Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-9} M, gelöst in abgekochtem Mineralwasser (Fa. Römerquelle), angewendet, um Zellschäden, die durch destilliertes Wasser entstehen können zu vermeiden (vgl. MODER 1932). Der pH-Wert der Lösung betrug 6–6,5. Als Versuchsobjekt diente die Küchenzwiebel, *Allium cepa,* weiße Sorte. Von der dritten Schuppe wurde nach Infiltration (STRUGGER 1949) Schnitte (5×5 mm) der oberen Epidermis abgezogen und 12 Stunden behandelt. Stets stammten behandelte und unbehandelte Epidermisstücke von ein und derselben Zwiebel.

Die Präparate wurden in einer Durchströmungskammer nach WERTH 1961 montiert. Der Wechsel der Lösungen erfolgte mit einer peristaltischen Pumpe (Miniplus 2, Fa. Gilson). Als Plasmolytikum diente eine 0,7 M Glucoselösung, anschließend wurde mit 0,3 M Glucoselösung deplasmolysiert. Die Auswertung erfolgte fotografisch (vgl. URL 1971). Die Wasserpermeabilität ($2K_{wo}$) wurde nach der Formel von STADELMANN 1963 berechnet. Pro Konzentration wurden Epidermispräparate von 6 verschiedenen Zwiebeln angefertigt. Pro Epidermisschnit wurden 10 bis 20 Zellen vermessen. Da ein gleichsinniger Ausfall mehrerer unabhängiger gleichartiger Versuchsreihen unterschiedlicher Signifikanz eine höhere Signifikanz als sie dem Einzelwert zukommt, erwarten läßt, wurden die P-Werte über die chi^2-Werte summiert (PATAU 1943, WEBER 1967 chi^2-Tabellen in GEIGY 1968). Als Stichprobenanzahl (n) wurde die Anzahl der untersuchten Zwiebeln (n=6) herangezogen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Ergebnisse und Diskussion

Wirkt TriEL in der angegebenen Zeit auf Zwiebelepidermiszellen ein, so sind bei einer Konzentration von 10^{-3} M bereits vor der Plasmolyse ca. 60% der Zellen abgestorben. Dieser Anteil toter Zellen erhöht sich nach der Deplasmolyse auf fast 100% (Abb. 1). Sind durch eine Konzentration von 10^{-4} M TriEL vor der Plasmolyse noch kaum Zellen tot, so sind es nach der

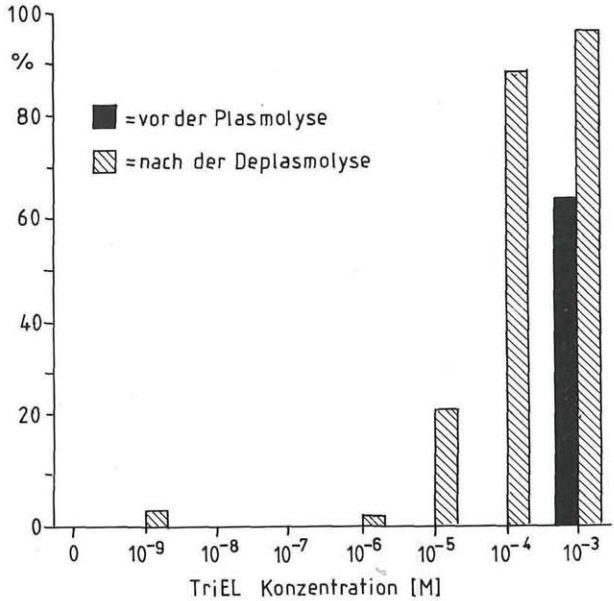

Abb. 1 Anteil der abgestorbenen Zellen der Zwiebelepidermis nach Behandlung mit TriEL in verschiedenen Konzentrationen. Schwarze Säulen = vor der Plasmolyse, schraffierte Säulen = nach der Deplasmolyse

Deplasmolyse fast 90%. Auch bei 10^{-5} M sterben nach der Deplasmolyse ¼ der Zellen ab. Dies besagt, daß 10^{-3} M TriEL eine letale Dosis für die Zwiebelepidermis darstellt. 10^{-4} und auch 10^{-5} M ist subletal: kommt es zu einer weiteren Belastung der Zellen (wie z. B. im vorliegenden Fall durch Plasmolyse), so sterben die Zellen rasch ab. Sämtliche Ergebnisse nach Behandlung mit 10^{-3} bis 10^{-5} M TriEL sind daher mit der nötigen Vorsicht zu interpretieren: zur Untersuchung gelangen nur mehr die wenigen überlebenden Zellen, die noch dazu von abgestorbenen Zellen umgeben sind. Bei den übrigen Konzentrationen bleibt der Anteil toter Zellen sowohl vor als auch nach der Plasmolyse unter 5%, bzw. es sind überhaupt keine Zellen abgestorben.

Die Plasmolyseform wurde durch TriEL nicht beeinflußt: bei den behandelten Präparaten und auch bei der Kontrolle konnte Konvexplasmolyse beobachtet werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Wurden die Epidermiszellen mit TriEL-Lösungen verschiedener Konzentrationen behandelt, so wird die Plasmaströmung gegenüber den Zellen der Kontrollepidermis bis zu einer Konzentration von 10^{-4} M kaum verändert. Bei 10^{-3} M TriEL konnte bereits vor der Plasmolyse kaum eine Plasmaströmung beobachtet werden (Abb. 2A). Nach der Deplasmolyse ist der Anteil an Zellen mit geringer Plasmaströmung bei allen Ansätzen wesentlich höher als vor der Plasmolyse (Abb. 2B), doch wiesen die mit TriEL behandelten Epidermisschnitte kaum Unterschiede zur Kontrolle auf: in 10^{-7} M TriEL zeigten die meisten Zellen geringe Plasmaströmung, der Unterschied ist aber nicht signifikant. TriEL-Konzentrationen über 10^{-4} sistieren die Plasmaströmung fast völlig.

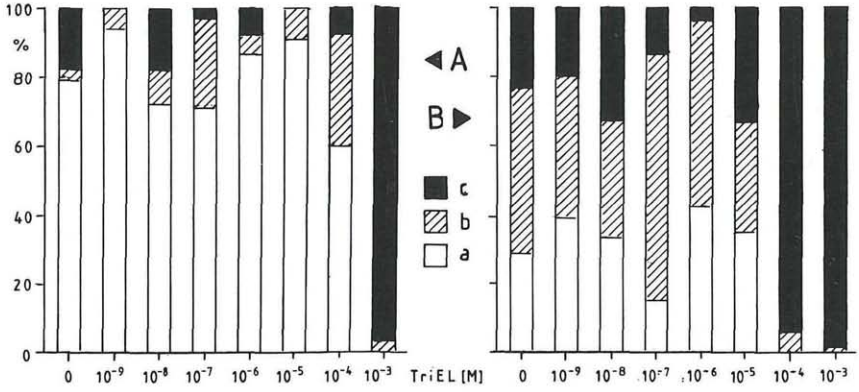

Abb. 2. Plasmaströmung in Epidermiszellen der Küchenzwiebel nach Einwirkung von TriEL in verschiedenen Konzentrationen. A = vor der Plasmolyse, B = nach der Plasmolyse. a (blank) = prozentualer Anteil von Zellen mit geringer Plasmaströmung ($< \mu m.s^{-1}$); b (schraffiert) = starke Plasmaströmung ($> \mu m.s^{-1}$); c (schwarz) = Anteil der Zellen mit sistierter Plasmaströmung.

Durch TriEL wird der Plasmolyseeintritt (= die Zeit zwischen dem ersten Kontakt der Zelle mit dem Plasmolytikum bis zur beginnenden Abhebung des Protoplasten) gegenüber der Kontrolle kaum verändert (Abb. 3). Die Plasmolysezeit (= die Zeit vom ersten abheben des Protoplasten bis zum Erreichen des Endvolumens) ist aber bei den mit TriEL behandelten Epidermispräparaten kürzer als bei den Kontrollen. Daraus resultiert auch, daß die Gesamtdauer der Plasmolyse mit unter 10 Minuten bei allen behandelten Präparaten wesentlich kürzer ist als die Plasmolysedauer von über 13 Minuten bei der Kontrolle. Die kürzeste Gesamtdauer der Plasmolyse (ca. 8 Minuten) hat die Zwiebelepidermis nach Behandlung mit 10^{-7} M TriEL.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

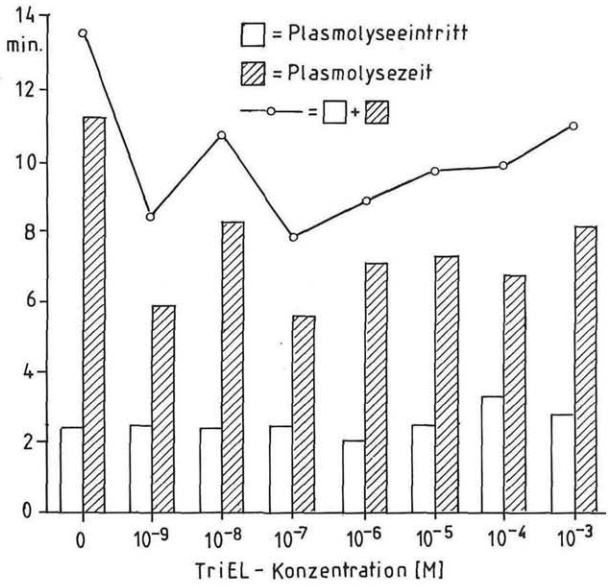

Abb. 3. Veränderungen der Plasmolysezeiten der Zwiebelepidermiszellen unter TriEL-Einwirkung. Blanke Säulen = Eintritt der Plasmolyse nach Einlegen in das Plasmolyticum; schraffierte Säulen = Plasmolysezeit, d. i. Zeit vom Plasmolyseeintritt bis zur vollständigen Abrundung des Protoplasten. Der darübergelegte Kurvenzug gibt die Gesamtdauer der Plasmolyse (blanke und schraffierte Säulen addiert) wieder. Zeitangaben in Minuten.

Die Bestimmung der Wasserpermeabilität ergab einen deutlichen Einfluß des TriEL's in den Konzentrationen 10^{-5} bis 10^{-7} (Abb. 4). Hier sind die Unterschiede zur Kontrolle hochsignifikant bis signifikant, wobei 10^{-7} eine doppelt so hohe Wassereintrittsgeschwindigkeit wie die Kontrolle zeigt. HAGER & al. 1987 konnten anhand von isolierten Vesikeln zeigen, daß TriEL als Anionen (Cl^-/OH^-) Antiporter in pflanzlichen Membranen wirkt, indem es energieabhängige Ionengradienten, Membranpotentiale und schließlich auch den Turgor verändert – dies bereits im Nanomolarbereich. Höhere Konzentrationen (> µM) wirken auf die Aktivität einer H^+-Pumpe, die am Tonoplasten liegt und über das Thiolsystem reguliert wird. Vorversuche mit Glutathion erbrachten, daß die von uns gefundene Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Glutathion wieder aufgehoben werden kann. Um genauere Aussagen treffen zu können, müssen noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

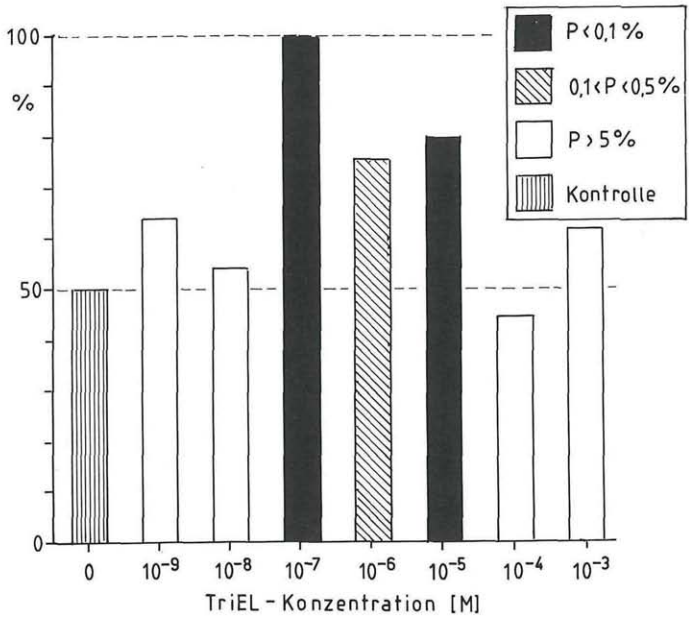

Abb. 4. Relative Änderung des Wasserpermeabilitäts-Koeffizienten ($2k_{wo}$) an Zwiebelepidermiszellen nach Einwirkung von TriEL in verschiedenen Konzentrationen. $2k_{wo}$ der unbehandelten Kontrollen = 100%. P = Signifikanz (Irrtumswahrscheinlichkeit) der Veränderungen.

Literatur

FAULSTICH H. & STOURNARAS C. 1984. Verursacht Triethylblei unsere Waldschäden? – Naturw. Rdsch. 37: 398–401.

FAULSTICH H., STOURNARAS C. & ENDRES K. P. 1987. Trialkyllead. Occurence, biological interactions, and possible impact on forest decline. – Experientia 43: 115–127.

GEIGY J. R., A. G. 1958. Wissenschaftliche Tabellen, Documenta Geigy. (Red. DIEM K. & LENTNER C.), 7. Aufl.-Basel.

HAGER A., MOSER I. & BERTHOLD W. 1987. Organolead toxicity in plants: triethyl lead (Et_3Pb^+) acts as a powerful transmembrane Cl^-/OH^- exchanger dissipating H^+-gradients at nanomolar level. – Z. Naturforsch. 42c: 1116–1120.

MODER A. 1932. Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. – Protoplasma 16: 1–55.

PATAU K. 1943. Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel). – Biol. Zbl. 63: 152–168.

RÖDERER G. 1979. Hemmung der Cytokinese und Bildung von Riesenzellen bei *Poeterioochromonas malhamensis* durch organische Bleiverbindungen und andere Agenzien. – Protoplasma 99: 39–51.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

RÖDERER G. 1984. On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivates on chrysophyte *Poterioochromonas malhamensis* V., Electron microscopical studies. – Environ. Exptl. Bot. 24: 17–30.

STADELMANN E. 1963. Vergleich und Umrechnung von Permeabilitätskonstanten für Wasser. – Protoplasma 57: 660–718.

STOURNARAS C., WEBER G., ZIMMERMANN H.-P., DOENGES K. H. & FAULSTICH H. 1984. High cytotoxicity and membrane permeability of Et_3Pb^+ in mammalian and plant cells. – Cell Biochem. Funct. 2: 213–216.

STRUGGER S. 1949. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie, 2. Aufl. – Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg.

URL W. G. 1971. The site of penetration resistance to water in plant protoplasts. – Protoplasma 72: 427–447.

WEBER E. 1967. Grundriß der biologischen Statistik. Anwendungen der mathematischen Statistik in Naturwissenschaft und Technik, 6. Aufl. – S. Fischer Verlag Stuttgart.

WERTH W. 1961. Vergleichende Untersuchungen über die relative Permeabilität des Protoplasmas für Alkohol und Wasser. – Protoplasma 53: 457–503.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1989

Band/Volume: 29_2

Autor(en)/Author(s): Guttenberger Helmut, Egger Gregory, Grill Dieter

Artikel/Article: Einfluß von Triethylblei auf Plasmolyse und Wasserpermeabilität von Zwiebelepidermiszellen. 255-261