

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 1911/1973

Osmotische Erscheinungen bei Pflanzenzellen Plasmolyse, *Allium cepa* (Liliaceae)

GÖTTINGEN 1973

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Film E 1911

Osmotische Erscheinungen bei Pflanzenzellen Plasmolyse, *Allium cepa* (Liliaceae)

W. URL, Wien

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Plasmolyse, die Abhebung des lebenden Protoplasmas unter der Einwirkung wasserentziehender Mittel, wurde schon um die Mitte des 19. Jh.s beobachtet und in den Grundzügen richtig beschrieben (PRINGSHEIM 1854 [5], NÄGELI 1855 [3]). In seiner Bedeutung erkannt und mit dem heute verwendeten Terminus belegt wurde dieser Vorgang aber erst von DE VRIES 1877 [8].

Der plasmolytische Eingriff ist seit dieser Zeit ein wichtiger Grundversuch, der in der botanischen Zellphysiologie eine bedeutende Rolle spielt. Er zeigt ja zunächst am besten die Semipermeabilität des Protoplasmas und damit die osmotischen Eigenschaften der Pflanzenzelle. Nur das lebende Protoplasma besitzt die Eigenschaft der Semipermeabilität, nur dieses ist also — im klassischen Sinn — leicht durchlässig für Wasser, undurchlässig aber für gelöste Stoffe. Plasmolyse ist deshalb auch ein vorzügliches Lebensreagens, darüber hinaus aber auch wichtige Grundlage für zytomorphologische und biophysikalische Untersuchungen. Die Geschwindigkeit des Plasmolyseeintrittes und die Form der Plasmolyse geben Auskunft über die Viskosität des Plasmas oder/und der plasmatischen Grenzschichten, plasmolytisch läßt sich auch die Konzentration des Zellsaftes an osmotisch wirksamen Stoffen bestimmen. Die Geschwindigkeit des Plasmolyseeintrittes und des Plasmolyserückganges (Deplasmolyse) gibt die Möglichkeit, die Wasserpermeabilität des Proto-

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 8.

plasmas quantitativ zu erfassen. Verwendet man ein permeierendes Plasmolytikum, etwa Harnstoff oder Glycerin, kann man aus dem Rückgang der Plasmolyse auch die Höhe der Stoffpermeabilität berechnen. Solche, mit vielen verschiedenen Substanzen ausgeführten Untersuchungen, bilden auch heute noch die Basis für wichtige Vorstellungen über den molekularen Bau der plasmatischen Membranen, besonders aber der so bedeutenden Plasmagrenzschichten.

Die Tatsache, daß sich erwachsene Pflanzenzellen, also solche mit relativ starrer Zellwand, dünnem Plasmawandbelag und großer Vakuole, plasmolysieren lassen, ist aber keine Selbstverständlichkeit, sondern heute ein noch wenig geklärtes, problemreiches Phänomen. Der Grund ist vor allem der, daß der Protoplast mit der Zellwand in engem Kontakt steht und bei der plasmolytischen Abtrennung die äußere Plasmagrenzschicht — das Plasmalemma — zerstört oder schwer geschädigt werden muß. Es muß bei der Plasmolyse jedenfalls in kurzer Zeit eine Neubildung von Plasmalemma in großem Ausmaß stattfinden. Dazu kommt, daß sich die Protoplasten meist nicht glatt von der Zellwand lösen, sondern durch feine, im wesentlichen aus Plasmalemma bestehenden Fäden (HECHTSche Fäden), mit dieser verbunden bleiben (HECHT [1]). Das Grundplasma ist also offensichtlich imstande, sehr schnell plasmatische Membranen neu zu bilden. SITTE [6] hat dieses wichtige molekular-physiologische und -morphologische Problem ausführlich diskutiert und formuliert: „Wie können die im Grundplasma vorhandenen, wenig geordneten Lipoprotein-Makromoleküle so umgeformt werden, daß sich Plasmamembranen, also mesomorphe Protein-Lipoid-Doppelfilme ergeben?“ (l. c. S. 319).

Zur Entstehung des Films

Für die Plasmolyseversuche wurden Zellen der Außen- und Innenepidermis von Küchenzwiebeln der Sorte „Rote Wiener“ verwendet. Nach Entlüftung unter der Wasserstrahlpumpe wurden von der äußeren (morphologisch unteren) Epidermis der von außen her 3. oder 4. lebenden Schuppe Schnitte hergestellt. Die äußeren Epidermen der „Roten Wiener“ sind durch den Anthocyangehalt des Zellsaftes rot gefärbt und besonders plasmareich.

Die farblosen Innenepidermen, die sich als einzellige Schicht abheben lassen — der Hauptgrund, warum diese Zellsorte ein Standardobjekt der botanischen Zellphysiologie ist —, wurden nach der bekannten Methode von STRUGGER [7] präpariert.

Zur Aufnahme kamen die Schnitte von der Außenepidermis bzw. die Epidermistreifen der Innenepidermis in eine Durchflußkammer nach WERTH [9], die an eine LKB-Peristaltikpumpe angeschlossen war.

Die Aufnahmen wurden mit einem Zeiss-WL-Stativ und einer Eclair-Camematic 35 mm auf Eastman Color-Film gemacht.

Filmbeschreibung¹

Außenepidermis

1 B/s bis 4 B/min

1. Die anthocyanhaltigen Zellen der Außenepidermis plasmolysieren in 0,6 mol CaCl₂ konkav. Die Plasmolyse tritt zuerst in den Randzellen ein und schreitet dann gegen die Mitte zu fort. Der verzögerte Plasmolyseeintritt in der Mitte ist dadurch bedingt, daß der Schnitt in der Mitte dicker ist, also durch den längeren Diffusionsweg für das Plasmolytikum.

Zum Zeitpunkt, wo eine annähernd gleichstarke Plasmolyse in allen Zellen erreicht ist, wird durch Zugabe von Wasser Deplasmolyse eingeleitet. Auch diese beginnt wieder vom Rande des Schnittes her, wobei sich die konkaven Protoplaste zunächst zu bikonvexen Formen abrunden.

Bei den relativ großen und anthocyanhaltigen Zellen von *Allium* ist der Plasmolysevorgang also schon bei mäßiger Vergrößerung gut zu beobachten. Mit unbewaffnetem Auge, oder bei Verwendung einer Lupe, erscheint ein solcher Schnitt in plasmolysiertem Zustand gesprenkelt (vgl. MOLISCH-BIEBL [2], S. 51).

Bildfeldbreite 6,1 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/min; Tessovar

2. Die Plasmolyse tritt auch in Glucose — hier in einer 1,0 molaren Lösung — zunächst konkavkonvex ein. Auffallend ist die nach Plasmolyseeintritt verstärkte Plasmaströmung, zugleich auch der beste Beweis für die völlige Unschädlichkeit des plasmolytischen Eingriffs. In einer Zelle haftet der Protoplast so stark an der Zellwand, daß bei der Kontraktion das Plasma zu einem segelartigen Gebilde ausgezogen wird. Dieses wird erst nach einiger Zeit wieder eingeschmolzen. Das farblose, strömende Protoplasma hebt sich gut vom gefärbten Zellsaft ab. Mit zunehmendem osmotischen Wasserentzug aus der Vakuole wird das hier gelöste Anthocyan konzentrierter, der Farbton vertieft sich zu einem Dunkelrot. Die völlige Abrundung der Protoplaste zu bikonvexen Formen dauert sehr lange und wurde mit niedrigerer Frequenz aufgenommen.

Durch Zufügen einer hypotonischen Glucoselösung werden die Zellen schonend deplasmolysiert. Die Verdünnung des Anthocyan im Zellsaft ist deutlich zu sehen. Nach erfolgter Deplasmolyse wird nochmals in hypertotonischer Glucoselösung plasmolysiert. Diese abermalige Plasmolyse beweist die Unschädlichkeit der Deplasmolyse, doch zeigen die Protoplaste jetzt unregelmäßigere Konturen, zum Teil fast Krampfplasmolyse. Die vorangegangenen plasmolytischen und deplasmolyti-

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

schen Eingriffe haben offenbar Plasmalemma und/oder Grundplasma doch alteriert, was sich in einer höheren Viskosität kundtut.

Bildfeldbreite 470 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s, 4 B/min, 1 B/s

Konvexplasmolyse KCl (0,6 mol)

Konkavplasmolyse CaCl₂ (0,5 mol)

1 B/s und 30 B/min

3. In hypertonischen KCl-Lösungen tritt die Plasmolyse gleich von Anfang an mit hoher Abrundungstendenz der Protoplaste ein, also fast bikonvex. Das Kalium-Ion hat eine viskositätserniedrigende, verflüssigende Wirkung auf das Protoplasma.

Die Abhebung der Protoplaste erfolgt zunächst allseitig, wieder ist die Konzentrationszunahme des Anthocyans im Zellsaft am zunehmend tiefer werdenden Farbton gut zu sehen. Die endgültige Abrundung der Protoplaste zu ideal bikonvexen Formen dauert wieder längere Zeit, wobei sie sich wieder den Längswänden anlegen.

Bildfeldbreite 605 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s und 30 B/min

Das Ca-Ion bewirkt — im Gegensatz zum Kalium — eine Verfestigung des Protoplasmas und im Zusammenhang damit eine Erhöhung der Viskosität und der Wandhaftung. In CaCl₂-Lösungen tritt die Plasmolyse krampfartig-konkav ein. In längeren Zellen nehmen die Protoplaste dabei oft perlschnurartige Formen an, weil Teile von ihnen an den Längswänden haften bleiben, während dazwischen allseitige Abhebung erfolgt.

Die Einstellungen 3 und 4 sind genau gleich lang und mit genau den gleichen Frequenzen aufgenommen, um zu zeigen, daß der Unterschied zwischen Plasmolysen in K- und Ca-Salzen nicht allein in den anfänglichen Protoplastenformen liegt. Eine Abrundung der in CaCl₂ plasmolysierten Protoplaste erfolgt — wenn überhaupt — erst sehr viel später.

Bildfeldbreite 490 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s und 30 B/min

Innenepidermis

Hechtsche Fäden

CaCl₂ (0,8 mol)

2 und 4 B/s

5. Die plasmolytische Abhebung beginnt an den Zellpolen mit ausgeprägt krampfartigen Formen. Von der Oberfläche der Protoplaste spannen sich dünne, plasmatische Fäden zur Zellwand, die im Phasenkontrast deutlich zu beobachten sind. Diese sog. HECHTSchen Fäden bestehen wesentlich, aber nicht allein, aus Plasmalemma. Zumindest bei Zuckerplasmolyse enthalten sie immer auch Grundplasma, wie elektronenmikroskopische

Befunde von SITTE [6] zeigen. Das läßt sich aber auch aus der Beobachtung im Lichtmikroskop schließen. In den HECHTSchen Fäden sieht man immer wieder Sphärosomen oder Mitochondrien liegen, aber auch größere Plasmaklumpchen, die ein besonders deutlicher Beweis für die Inhomogenität der Fäden sind. Man vergleiche dazu das klassische Bild von PLOWE [4].

Bildfeldbreite 310 μm ; Phasenkontrast; Aufn.-Freq. 2 B/s

6. Im Dunkelfeld sind die HECHTSchen Fäden und ihre Bildung am besten zu beobachten. Sie treten erst einige Zeit nach der Abhebung des Protoplasten von der Zellwand deutlich hervor. In den Fäden eingeschlossene Organellen sind gut zu sehen. Einzelne HECHTSche Fäden oder Teile von ihnen reißen von der Zellwand los und flottieren, korkzieherartig eingerollt, im Plasmolyseverraum.

Bildfeldbreite 195 μm ; Dunkelfeld; Aufn.-Freq. 2 B/s

7. Hier sieht man besonders gut, daß bei Eintritt der Plasmolyse die Plasmaströmung ungehindert weitergeht. Auch das zeigt, daß das Plasmalemma nach der Abreißung des Protoplasten von der Zellwand mit größter Schnelligkeit neu gebildet werden muß, wobei man auch das Plasmalemma, das die HECHTSchen Fäden umgibt, in Betracht zu ziehen hat.

Bildfeldbreite 120 μm ; Dunkelfeld; Aufn.-Freq. 4 B/s.

Literatur

- [1] HECHT, K.: Studien über den Vorgang der Plasmolyse. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 11 (1912), 137—192.
- [2] MOLISCH-BIEBL, H.-R.: Botanische Versuche und Beobachtungen ohne Apparate. 3. Aufl. G. Fischer, Stuttgart 1955.
- [3] NÄGELI, C.: In: NÄGELI, C., und C. CRAMER: Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Fr. Schulthess, Zürich 1855.
- [4] PLOWE, J. Q.: Membranes in the plant cell. I. Morphological membranes at protoplasmic surfaces. Protoplasma 12 (1931), 196—220.
- [5] PRINGSHEIM, N.: Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. A. Hirschwald, Berlin 1854.
- [6] SITTE, P.: Zellfeinbau bei Plasmolyse. II. Der Feinbau der Elodea-Blattzellen bei Zucker- und Ionenplasmolyse. Protoplasma 57 (1963), 304—333.
- [7] STRUGGER, S.: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Aufl. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1949.
- [8] VRIES, H. DE: Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung. W. Engelmann, Leipzig 1877.
- [9] WERTH, W.: Vergleichende Untersuchungen über die relative Permeabilität des Protoplasmas für Alkohol und Wasser. Protoplasma 53 (1961), 457—503.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1973 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, farbig, 48 m, 4 ½ min Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1972. Veröffentlichung aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien, Univ.-Prof. Dr. W. URL, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE, Aufnahme und Schnitt: H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

Der Film zeigt in Zeitraffung die Plasmolyse, also die Abhebung des lebenden Protoplasmas von der Zellwand unter der Einwirkung wasserentziehender Mittel, an Zellen der Außen- und Innenepidermis der Zwiebeln von *Allium cepa*.

An den durch Anthocyan rotgefärbten Zellen der äußeren Epidermis werden die Plasmolyse, Deplasmolyse und Wiederplasmolyse in Glucoselösung und die verschiedenen Plasmolysebilder in KCl- und CaCl₂-Lösungen gezeigt. Die Bildung von HECHT'schen Fäden wird im Phasenkontrast und im Dunkel-feld an den Innenepidermiszellen bei Plasmolyse mit CaCl₂ demonstriert.

Summary of the Film

In time-lapse the film shows plasmolysis, i.e. the removal of the living protoplasm from the cell wall under the effect of water withdrawing media in cells of the outer and inner epidermis of the bulb scales of *Allium cepa*.

The film shows the plasmolysis, deplasmolysis and replasmolysis in a glucose solution and the various plasmolysis images in KCl and CaCl₂ solutions on outer epidermis cells coloured red by anthocyanin. In the phase-contrast and the dark field, the formation of HECHT fibres is demonstrated on the inner epidermis cells during plasmolysis with CaCl₂.

Résumé du Film

Le film montre en accéléré la plasmolyse, c'est-à-dire le détachement du protoplasme vivant de la membrane cellulaire, sous l'effet d'une substance déshydratante, dans des cellules de l'épiderme externe et interne de pelure d'oignon de *Allium cepa*.

On voit dans des cellules colorées en rouge avec de l'anthocyanine de l'épiderme externe, la plasmolyse, la déplasmolyse et la replasmolyse dans une solution de glucose, et les différentes configurations de la plasmolyse dans des solutions de KCl et de CaCl₂. La formation de filaments de HECHT est démontrée, en contraste de phases et sur champ sombre, dans des cellules de l'épiderme interne lors de la plasmolyse avec du CaCl₂.