Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 58 (1948)

Artikel: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas auf Grund des Fickschen Diffusionsgesetzes

Autor: Bochsler, Alfred

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-41306

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas auf Grund des Fickschen Diffusionsgesetzes

Von *Alfred Bochsler*

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich)

Eingegangen am 30. Dezember 1947

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	73
B. Anwendung des Fickschen Diffusionsgesetzes auf die Wasserpermeation	75
1. Prinzipielle Anwendbarkeit des Fickschen Gesetzes	75
2. Mathematische Erfassung der Wasserpermeation	78
3. Experimenteller Beweis der Gültigkeit des Fickschen Gesetzes für die Wasserpermeation	86
C. Messung und Berechnung der Wasserpermeationskonstanten	97
1. Plasmolyse	97
2. Deplasmolyse	101
3. Gegensinnige Permeation	106
D. Schlußbetrachtungen	117
E. Zusammenfassung	120
Literaturverzeichnis	121

A. Einleitung und Problemstellung

Für die Stoffpermeation wurde, namentlich durch die Untersuchung der Anelektrolyt-Permeation an *Chara ceratophylla* auf mikrochemischem Wege durch Collander und Bärlund (1933), die Gültigkeit des Fickschen Diffusionsgesetzes erwiesen. Die Permeation verläuft, diesem Gesetze folgend, proportional dem Konzentrationsunterschied der diffundierenden Substanz beidseits der Membran.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Wasserpermeation. Die Permeation des Wassers wird nicht durch die Ficksche Diffusionsgleichung dargestellt, sondern durch eine dieser ähnlichen Gleichung, indem die Wasserpermeation proportional dem osmotischen Druckunterschied oder, was gleichbedeutend ist, proportional dem Konzentrationsunterschied der gelösten Substanz gesetzt wird. Die Wasserpermeation erfolgt also nicht, wie die Stoffpermeation, proportional dem Konzentrationsunterschied des diffundierenden Stoffes, also hier des Wassers, sondern proportional dem Konzentrationsunterschied des gelösten Stoffes, also des an der Permeation nicht unmittelbar beteiligten Anteils.

Dieser grundsätzlich verschiedenen Auffassung der Stoff- und Wasserpermeation zufolge besitzen aber die beiden Permeationskonstan-

ten verschiedene Dimensionen. Die Stoffpermeationskonstante, die definiert wird als *die Menge der gelösten Substanz, die in der Zeiteinheit bei einem Konzentrationsunterschied von 1 Mol pro Volumeneinheit durch die Flächeneinheit der Membran diffundiert,* besitzt die Dimension Länge/Zeit, z. B. $cm \cdot h^{-1}$. Die Wasserpermeationskonstante, die angibt, *welches Volumen Wasser bei einem osmotischen Druckunterschied von 1 Atm. in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit durchtritt,* hat die Dimension Länge/Druck · Zeit, z. B. $cm \cdot Atm.^{-1}h^{-1}$, bzw. $cm \cdot Mol^{-1}h^{-1}$, wenn an Stelle des Druckes die Konzentration gesetzt wird (Frey-Wyßling und v. Rechenberg-Ernst, 1943).

Wollen wir aber die Wasserpermeabilität mit der Stoffpermeabilität quantitativ vergleichen, so ist dies nur möglich, wenn die beiden Permeationskonstanten dieselbe Dimension besitzen, d. h. gleich definiert sind. Ein solcher quantitativer Vergleich war denn auch bis in die neueste Zeit in der Literatur nicht zu finden. Wartiovaara (1944) bestimmte zum erstenmal experimentell die Wasserpermeationskonstante für *Tolypellopsis* in $cm \cdot h^{-1}$. Die Bestimmung dieser Konstante bezieht sich dabei aber auf die Permeation des schweren Wassers, das in 30- bis 50prozentiger Lösung gegen gewöhnliches Wasser diffundiert. Das schwere Wasser kann dabei als « gelöste Substanz » in gewöhnlichem Wasser aufgefaßt werden. Es ist zu erwarten, daß dessen Permeation nach dem gleichen Mechanismus erfolgen wird wie die irgendeines andern in Wasser gelösten Stoffes, und es hat sich denn auch tatsächlich die Gültigkeit des Fickschen Gesetzes für die Permeation des schweren Wassers erwiesen. Was uns hier aber interessiert, ist die Frage: Können wir das Ficksche Gesetz auch auf den « osmotischen Wasserfluß » anwenden, d. h. auf die Wasserpermeation, wie sie bei plasmolytischen Versuchen stattfindet, wo das Wasser beidseits der Membran als Lösungsmittel in sehr hoher Konzentration vorkommt?

Frey-Wyßling (1946) versuchte diese Frage zu beantworten, indem er die Wasserpermeation als einen der Stoffpermeation analogen Vorgang betrachtete und sie ebenfalls dem Fickschen Gesetz unterstellte. Die Wasserpermeation verläuft nach dieser Auffassung proportional der Differenz der Wasserkonzentration beidseits der Membran und ist somit gleich definiert wie die Stoffpermeation. Beide Permeationskonstanten besitzen damit die Dimension $cm \cdot h^{-1}$.

Diese Auffassung führt indessen zum Widerspruch mit der osmotischen Theorie und wurde in einer vorläufigen Mitteilung (Frey-Wyßling und Bochsler, 1947) richtiggestellt. Die bisherige Auffassung der Wasserpermeation, wonach die Zelle als osmotisches System aufzufassen ist und als solches die osmotischen Gesetze befolgt, ist experimentell gesichert (vgl. Sammelreferat Lucké und McCutcheon, 1932; Davson und Danielli, 1943). Wenn das Ficksche Gesetz

auf die Wasserpermeation angewendet werden soll, so muß dies so geschehen, daß zur osmotischen Auffassung kein Widerspruch entsteht.

In der vorliegenden Arbeit soll die Anwendung des Fickschen Gesetzes auf die Wasserpermeation unter diesem Gesichtspunkt theoretisch durchgeführt und experimentell geprüft werden. Die Arbeit entstand auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. A. Frey-Wyßling am Pflanzenphysiologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule.

B. Anwendung des Fickschen Diffusionsgesetzes auf die Wasserpermeation

1. Prinzipielle Anwendbarkeit des Fickschen Gesetzes

Bestehen in einer Lösung lokale Konzentrationsunterschiede, so suchen sich diese durch Diffusion auszugleichen. Fick (1855) erkannte, daß dieser Prozeß nach dem Gesetz

$$\frac{dm}{dt} = - Dq \frac{dc}{ds} \qquad (1)$$

erfolgt. Hierin bedeuten dm die in der Zeit dt diffundierende Stoffmenge, q die Fläche senkrecht zum Diffusionsstrom, durch die die Diffusion stattfindet, dc/ds den Konzentrationsgradienten in der Membran und D den Diffusionskoeffizienten.

Fick nahm an, daß der Diffusionskoeffizient D für alle Konzentrationswerte eine Konstante sei. Experimente zeigten indessen bald, daß diese Annahme nur bedingt richtig ist. Zuber (1932) untersuchte mit einem Mikrodiffusionsapparat die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von der Konzentration. Er läßt zu diesem Zweck eine konzentrierte Lösung, z. B. eine 40prozentige Harnstofflösung, gegen reines Wasser diffundieren. Während die Konzentration von 40 Prozent auf der einen Seite konstant bleibt, nimmt die Konzentration auf der andern Seite mit fortschreitender Diffusion ständig zu. Mit dieser Konzentrationszunahme wird fortlaufend der Diffusionskoeffizient gemessen. Als Beispiel seien hier die graphischen Darstellungen der Messungen für eine 40prozentige Harnstofflösung (Abbildung 1), bzw. eine 40prozentige Rohrzuckerlösung (Abb. 2) angeführt. Auf der Abszisse ist die veränderliche Konzentration, auf der Ordinate der Diffusionskoeffizient aufgetragen. Die Kurven zeigen, daß der Diffusionskoeffizient sich mit der Konzentration ändert. Die Diffusion verläuft demnach nicht nach dem Fickschen Gesetz, denn das Charakteristikum dieses Gesetzes, die Konstanz des Diffusionskoeffizienten, ist nicht erfüllt. An Stelle der Fickschen Gleichung muß eine andere Beziehung treten. Es kann dies z. B. die Gleichung von Boltzmann (1894) sein oder, je nach Chemismus

und Konzentration des diffundierenden Stoffes, eine andere Gesetzmäßigkeit, in der der Diffusionskoeffizient als Funktion der Konzentration erscheint.

Die Konzentrationsabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten ist offenbar eine Folge des mit zunehmender Konzentration veränderten gegenseitigen Einflusses der Teilchen aufeinander. Die Konstanz des Diffusionskoeffizienten in der Fickschen Gleichung wurde nun bisher meist in dem Sinne interpretiert, daß die einzelnen Moleküle des diffundierenden Stoffes keinen ins Gewicht fallenden Einfluß aufeinander ausüben, mit andern Worten, daß die Ficksche Gleichung nur für verdünnte Lösungen anwendbar sei (Jacobs, 1935). Nur der Spezialfall der sehr verdünnten Lösungen ist denn auch von der Theorie verhältnis-

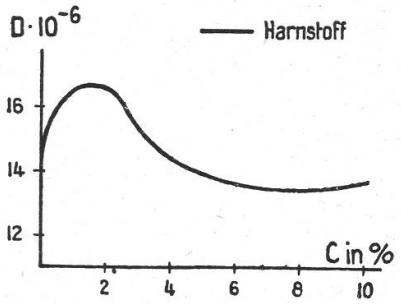


Abbildung 1
Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von der Konzentration einer Harnstofflösung

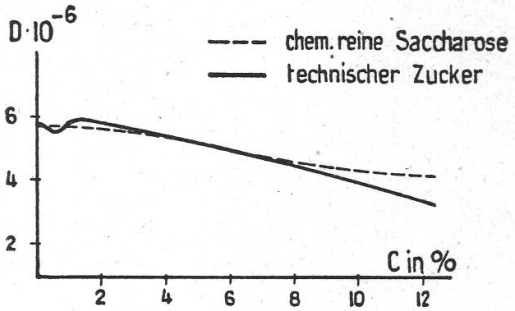


Abbildung 2
Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von der Konzentration einer Rohrzuckerlösung

mäßig einfach zu erfassen. Für diese gelang es, das von Fick empirisch gefundene Gesetz theoretisch abzuleiten (Nernst, 1888, Einstein, 1905). Bei der Wasserpermeation der plasmolytischen Versuche handelt es sich aber durchwegs um sehr hohe Konzentrationen von der Größenordnung 50 Mol/L. Die Forderung für die Gültigkeit des Fickschen Gesetzes, daß die einzelnen Moleküle so weit voneinander entfernt sein müssen, daß sie auf ihre Bewegung keinen gegenseitigen Einfluß ausüben, ist hier offenbar nicht erfüllt. So schreibt denn Jacobs (1935): «... the individual molecules are so close together that they form a continuous body, which because of the cohesive forces in the liquid is capable of behaving in certain respects as a single unit. To attempt to treat a case of this sort by laws appropriate to dilute solutions would clearly be unwarranted.»

Die Konstanz des Diffusionskoeffizienten läßt aber noch eine andere Interpretation zu, nämlich in dem Sinne, daß eine gegenseitige Beeinflussung der Teilchen zwar vorhanden sein kann, aber auf beiden Seiten der Membran von derselben Art und Größenordnung; z. B. wenn die

Konzentrationen beidseits der Membran nicht allzusehr voneinander abweichen (Zuber, 1932). Dies trifft für die Wasserpermeation bei plasmolytischen Versuchen zu. Die Konzentration des Wassers von Zellsaft und Plasmolytikum ist wohl sehr hoch, aber nur wenig voneinander verschieden. Der Diffusionskoeffizient, bzw. Permeationskoeffizient wird, infolge des gleichbleibenden gegenseitigen Einflusses der Teilchen aufeinander, während des Permeationsablaufes konstant bleiben, damit aber wird die Permeation nach dem Fickschen Gesetz verlaufen.

Wenn das Experiment die Richtigkeit dieser Überlegung erweist, können wir dann die Wasserpermeationskonstante quantitativ mit der Stoffpermeationskonstante vergleichen? Bei der Stoffpermeation ist die diffundierende Substanz in niedriger Konzentration vorhanden (z. B. 1 Mol/L), bei der Wasserpermeation das Wasser aber in hoher Konzentration (z. B. 50 Mol/L). Wären wir in der Lage, die Wasserpermeationskonstante ebenfalls bei beidseitig der Membran niedriger Wasserkonzentration zu gewinnen, so wäre es denkbar, daß der so gewonnene Wert von dem bei beidseitig hoher Konzentration erhaltenen Wert verschieden wäre, denn man könnte erwarten, daß der gegenseitige Einfluß der Teilchen im ersten Fall ein anderer sein wird als im zweiten und dies im numerischen Wert der Permeationskonstanten zum Ausdruck kommt. Eine abschließende Beantwortung dieser Frage ist noch nicht möglich, aber einen Hinweis auf die Größe dieser möglichen Differenz gibt uns die Permeabilitätsbestimmung von Wartiovaara (1944) an *Tolypellopsis* für schweres Wasser.

Wartiovaara verwendete D_2O in 30—50prozentiger Konzentration und ließ, nach Sättigung des Zellsaftes mit dieser Lösung, diese aus der Zelle in gewöhnliches Wasser hinausdiffundieren. Da sich in wässeriger Lösung momentan das Gleichgewicht

$$H_2O + D_2O \rightleftharpoons 2\,HDO$$

einstellt und die Gleichgewichtskonstante 3,3 beträgt, so wird das schwere Wasser zur Hauptsache als HDO hinausdiffundieren. In einer 50prozentigen D_2O-Lösung sind 30,5 Mol/L, bzw. in einer 30prozentigen Lösung 28 Mol/L HDO enthalten. Für diese hohe Konzentration von rund 30 Mol/L konnte Wartiovaara die volle Gültigkeit des Fickschen Gesetzes nachweisen. Der Diffusionskoeffizient ist also im ganzen Konzentrationsbereich 0—30 Mol/L konstant.

Das Permeationsverhalten des schweren Wassers unterscheidet sich von dem des gewöhnlichen Wassers nur geringfügig (Lucké und Harvey, 1935; Brooks, 1935, 1937; Parpart, 1935), so daß die Konstanz des Diffusionskoeffizienten auch für die Permeation des gewöhnlichen Wassers gewahrt bleiben dürfte. Der numerische Wert der Wasserpermeationskonstante bei hoher Konzentration wird demnach, wenn überhaupt, von dem der niedrigen Konzentration nur geringfügig ab-

weichen, so daß ein quantitativer Vergleich mit den Stoffpermeationskonstanten, die ja stets bei niedrigen Konzentrationen gewonnen werden, durchaus möglich erscheint. Diese Feststellung stützt zudem die oben entwickelte Betrachtung für die Anwendbarkeit des Fickschen Gesetzes in einem weiteren Gültigkeitsbereich, indem dieser nicht, wie angenommen, auf die enge Begrenzung nahezu gleicher Konzentrationen beidseits der Membran beschränkt bleiben muß, sondern darüber hinaus für beträchtliche Konzentrationsunterschiede Gültigkeit erhält.

2. Mathematische Erfassung der Wasserpermeation

Einen Versuch, den Wasserpermeationsvorgang auf der Grundlage des Fickschen Gesetzes mathematisch zu erfassen, hat Frey-Wyßling (1945, 1946) durchgeführt.

Gehen wir von der Fickschen Gleichung (1) aus, beachten wir, daß die Membran sehr dünn ist, was bei den Plasmagrenzschichten biologischer Objekte stets der Fall ist, und nehmen wir an, daß der diffundierende Stoff die Membran verhältnismäßig langsam passiert, sich dagegen in den Lösungen ungehindert ausbreitet, so bestimmt allein die Diffusion durch die Membran die Geschwindigkeit des Gesamtvorganges. Den Konzentrationsgradienten können wir dann durch das lineare Konzentrationsgefälle in der Membran ersetzen, d. h.

$$\frac{dc}{ds} = -\frac{c_1 - c_2}{\Delta s}$$

wobei $c_1 - c_2$ den Konzentrationsunterschied der Lösungen beidseits der Membran und Δs die Membrandicke bedeutet. Bezeichnen wir die variable Konzentration im Zellinnern mit x, die konstante äußere Konzentration mit C und vereinigen wir die Membrandicke Δs mit der Diffusionskonstante zu einer neuen Konstante, der *Permeationskonstante P,* so erhalten wir die von Frey-Wyßling benützte Permeationsgleichung

$$\frac{dm}{dt} = Pq\,(C - x) \qquad (2)$$

Diese Gleichung, die schon Runnström (1911) für die Darstellung des Permeationsvorganges empfahl, wandten Bärlund (1929) und Collander und Bärlund (1933) für ihre Permeabilitätsuntersuchungen an.

In der Permeationsgleichung (2) sind — q als konstant betrachtet — dm und x zwei von der Zeit abhängige Variable. Diese können auf eine Variable reduziert werden, womit die Gleichung integrierbar wird, wenn wir beide Seiten der Gleichung durch das Zellvolumen v_z dividieren. An

Stelle von dm tritt dann $dm/v_z = dx$, d. h. die Konzentrationsänderung in der Zelle in der Zeit dt:

$$\frac{dx}{dt} = P \frac{q}{v_z} (C-x) \qquad (3)$$

Frey-Wyßling (1945) führte an Stelle der volummolaren Konzentrationen die relativen Volumina ein, d. h. statt in Mol/L werden die Konzentrationen in ccm/L angegeben. Zu diesem Zweck multiplizieren wir Gleichung (3) beidseits mit dem Molekulargewicht des betreffenden Stoffes und dividieren durch dessen Dichte und erhalten damit für die Stoffpermeation die Gleichung

$$dy_1^* = P_1 Q (V_1 - y_1^*) \, dt \qquad (4)$$

und für die Wasserpermeation

$$dy_2^* = P_2 Q (y_2^* - V_2) \, dt \qquad (5)$$

Konzentrationsangaben, die sich auf die Zelle beziehen, wollen wir mit einem * versehen. Es bedeuten demnach V_1 und V_2 die konstanten relativen Volumina des gelösten Stoffes und des Wassers im Plasmolytikum; y_1^* und y_2^* die entsprechenden variablen Konzentrationen in der Zelle. Mit $Q = q/v_z$ bezeichnen wir die Oberflächenentwicklung der Zelle.

Die Gleichungen (4) und (5) sind die von Frey-Wyßling benützten Gleichungen. Da in Gleichung (3) das konstante Zellvolumen v_z steht, die Konzentrationen des Zellsaftes sich somit auf die nicht plasmolysierte Zelle beziehen, ist die Anwendung der Gleichungen (4) und (5) auf nichtplasmolytische Versuche beschränkt, bzw. auf solche, bei denen die Volumänderung praktisch vernachlässigt werden darf (z. B. Plasmoptyse). Bei plasmolytischen Versuchen ist das Protoplastenvolumen variabel; an Stelle von v_z der Gleichung (3) tritt das variable Protoplastenvolumen v, und wir erhalten :

$$\frac{dx}{dt} = P \cdot \frac{q}{v} (C-x) \qquad (3\,a)$$

Diese Gleichung ist, da q und v von der Zeit abhängige Variable sind, nicht integrierbar. Sie wird es aber, wenn wir uns auf zylindrische Zellen beschränken. Es ist dann die Oberflächenentwicklung Q des Protoplasten (Zylinder + 2 halbkugelige Menisken) mit großer Annäherung eine Konstante. Die Messungen dieser Arbeit zeigen, daß die Oberflächenentwicklung des Protoplasten, zur Zeit der kleinsten und größten Ausdehnung desselben, sich nur um 2—8 % voneinander unterscheidet. Näherungsweise können wir Q, bei Vernachlässigung der Menisken, als

Konstante mit dem Wert $Q = 2/r$ betrachten, wobei r der Radius des Protoplasten bedeutet (Frey-Wyßling, 1945). Doch kommt diesem Wert nur der Größenordnung nach richtige Bedeutung zu, indem er, wie die praktischen Versuche zeigen, um 12—20 % zu niedrig ist und damit die Permeationskonstanten um diesen Betrag zu groß ausfallen. Wir benützen deshalb in dieser Arbeit, mit Ausnahme der Versuche 7—9 und Tabelle 15, den exakten Wert für Q. Dieser ergibt sich, nach entsprechender Vereinfachung des Ausdruckes q/v, aus der Formel

$$Q = \frac{2\,l_z + 4r}{r\,l_z + \frac{4}{3}r^2}$$

wobei l_z den Mittelwert des Protoplastenzylinders (d. h. ohne die Menisken) zur Zeit der größten und kleinsten Ausdehnung bedeutet und r den Radius dieses Zylinders.

Gleichung (3 a) wird, bei Benützung der Konstante Q, integrierbar. An Stelle von (4) und (5) treten die Gleichungen

$$d\bar{y}_1 = P_1 Q\,(V_1 - \bar{y}_1)\,dt \qquad (4\,a)$$

$$d\bar{y}_2 = P_2 Q\,(\bar{y}_2 - V_2)\,dt \qquad (5\,a)$$

Im Unterschied zu den mit * bezeichneten Konzentrationen, die sich auf das Zellvolumen v_z beziehen, sind hier und im folgenden die Konzentrationen, die sich auf das Protoplastenvolumen v beziehen, grundsätzlich immer überstrichen.

Uns interessiert hier die Gleichung (5 a) für die Wasserpermeation. Sie besagt, daß die Wasserpermeation proportional dem Wasserkonzentrationsunterschied beidseits der Membran verläuft, also zum Stillstand kommt, wenn Gleichheit der Wasserkonzentrationen erreicht ist. Diese Aussage steht aber im Widerspruch zur experimentell gesicherten Tatsache, daß isotonische Plasmolytika mit verschiedenem Chemismus und demzufolge verschiedener Wasserkonzentration dieselbe Wirkung auf die Zelle ausüben.

Diese Tatsache aber weist uns den Weg zu einer Formulierung der Gleichung (5 a), die mit den osmotischen Gesetzmäßigkeiten nicht im Widerspruch steht. Die graphische Darstellung des Protoplastenvolumens in Funktion der Zeit ergibt für jedes dieser isotonischen, nicht permeierenden Plasmolytika dieselbe Volumkurve. Wenn das aber der Fall ist, dann ist auch die $\bar{y}_2$-Kurve, d. h. die graphische Darstellung der Wasserkonzentration im Zellsaft in Funktion der Zeit, für jedes dieser Plasmolytika dieselbe, ganz gleichgültig, welches die Wasserkonzentration des Plasmolytikums ist. Im Gleichgewichtszustand der Zelle mit dem Plasmolytikum wird $\bar{y}_2$ eine ganz bestimmte Konzentration erreichen,

wir wollen sie die *Gleichgewichtskonzentration* $\overline{V}_2$ nennen. Die Gleichung (5 a) muß demnach lauten:

$$d\overline{y}_2 = P_2 Q (\overline{y}_2 - \overline{V}_2)\, dt \qquad (5\,b)$$

d. h. die Wasserpermeation verläuft proportional der Differenz der jeweiligen Wasserkonzentration im Zellsaft und seiner Gleichgewichtskonzentration daselbst (Frey-Wyßling und Bochsler, 1946).

Für die Stoffpermeation lautet die Gleichung in analoger Weise

$$d\overline{y}_1 = P_1 Q (\overline{V}_1 - \overline{y}_1)\, dt \qquad (4\,b)$$

und steht damit mit der Formulierung von Collander und Bärlund (1933) in Übereinstimmung, indem diese an Stelle der Außenkonzentration ebenfalls die Gleichgewichtskonzentration setzen.

Mittels der Gleichung (5 b) können wir nun die Definition der Wasserpermeationskonstante vornehmen. Doch schreiben wir diese, als *Definitionsgleichung,* besser in Form der in der Praxis und auch in unsern Endformeln benützten volummolaren Konzentrationen :

$$d\overline{x}_2 = P_2 Q (\overline{x}_2 - \overline{C}_2)\, dt \qquad (5\,c)$$

P_2 ist nach dieser Gleichung definiert *als die Wasserkonzentrationsänderung, die der Zellsaft einer Zelle mit der Oberflächenentwicklung $Q = 1$ in der Zeiteinheit bei einem wirksamen Konzentrationsunterschied von 1 Mol Wasser pro Volumeinheit erfährt.* Die Dimension von P_2 ist $cm \cdot h^{-1}$.

Die Definition der Stoffpermeationskonstante P_1 folgt in analoger Weise aus der Gleichung

$$d\overline{x}_1 = P_1 Q (\overline{C}_1 - \overline{x}_1)\, dt \qquad (4\,c)$$

In der Permeabilitätsliteratur wird als Definitionsgleichung häufig Gleichung (2) benützt und z. B. die Stoffpermeationskonstante definiert als die Menge der gelösten Substanz, die in der Zeiteinheit, bei einem Konzentrationsunterschied von 1 Mol pro Volumeinheit, durch die Flächeneinheit der Membran permeiert. Diese Definition ist richtig, solange als in der Beziehung $dm = dx \cdot v$ das Volumen v konstant bleibt. Bei plasmolytischen Versuchen ist das Protoplastenvolumen aber variabel, und für diese gilt lediglich Gleichung (3 a). Wird Gleichung (2) dennoch auf plasmolytische Versuche angewendet, wie es so oft der Fall ist, so müssen wir uns bewußt sein, daß dm hierbei nicht die effektiv durch die Membran tretende Stoffmenge bedeutet, sondern lediglich die aus der Konzentrationsänderung des Zellsaftes berechnete. In der Praxis berechnet man denn auch die Stoffpermeabilität aus der Konzentrationsänderung des Zellsaftes, indem man diese aus zwei Plasmolysegraden

feststellt. Diese Tatsache ist wichtig und für die Betrachtung der Wasserpermeation von grundlegender Bedeutung. Denn der Ansatz, die Volumabnahme des Protoplasten, also die effektiv herauspermeierende Wassermenge, proportional dem Wasserkonzentrationsunterschied zu setzen, ist nach diesen Ausführungen nicht richtig und wohl der Grund, warum die Anwendbarkeit des Fickschen Gesetzes auf die Wasserpermeation bisher nicht erkannt worden ist. Richtig ist, daß die Volumabnahme proportional dem osmotischen Druckunterschied verläuft; dies hat aber mit der Wasserpermeation im Sinne des Fickschen Gesetzes nichts zu tun. Betrachten wir z. B. eine Zelle in einer 0,6molaren Zuckerlösung. Das Protoplastenvolumen sei 1, und das relative Volumen des osmotisch wirksamen Stoffes im Zellsaft sei 0,10. Bringen wir nun die Zelle in eine 1,8molare Zuckerlösung, so verkleinert sich das Protoplastenvolumen auf 0,33, das relative Volumen des Zellstoffes wächst umgekehrt proportional zu dieser Protoplastenverkleinerung, beträgt nun also 0,30. Die Wasserkonzentration des Zellsaftes hat also von 0,90 auf 0,70 rel. Vol. abgenommen, d. h. von 50 auf 38,9 Mol. Berechnen wir die Wasserpermeabilität analog der Stoffpermeabilität aus der Konzentrationsabnahme des Zellsaftes, so werden wir sagen, es seien 11,1 Mol Wasser durch das Plasma permeiert, in Wirklichkeit aber sind es, der Volumabnahme des Protoplasten entsprechend, 36,7 Mol. Die Gleichung (2) auf plasmolytische Versuche angewendet, besagt also nichts anderes als (5 c), indem dm nicht die wirklich durch die Membran permeierte Anzahl Mole angibt, sondern lediglich die Zahl der Mole, um die sich die Konzentration des Zellsaftes geändert hat, oder, was gleichbedeutend ist, die Zahl der Mole, die durch die Membran treten würde, wenn das Protoplastenvolumen konstant bliebe.

Wir wollen nun daran gehen, eine Formulierung zu finden, die die Berechnung der Permeationskonstante P_2 aus experimentellen Daten gestattet.

Integrieren wir Gleichung (5 b), so folgt für die Wasserpermeationskonstante

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{\overline{V}_2' - \overline{V}_2}{\overline{y}_2 - \overline{V}_2} \qquad (6)$$

Es bedeutet dabei $\overline{V}_2'$ die Wasserkonzentration im Zellsaft zu Beginn des Versuches, $\overline{V}_2$ dieselbe nach Einstellung des Gleichgewichtszustandes mit dem Plasmolytikum, $\overline{V}_2$ die veränderliche Wasserkonzentration im Zellsaft zur Zeit t und Q die Oberflächenentwicklung.

Bei plasmolytischen Versuchen ist indessen weder die Anfangs- noch die Gleichgewichtskonzentration des Wassers im Zellsaft bekannt. Wir müssen einen Weg suchen, die Wasserpermeabilität in bezug auf diesen

Wasserkonzentrationsunterschied dennoch berechnen zu können. Diesen weist uns die Betrachtung der Halbwertszeit τ', d. h. die Zeit, in der die Wasserkonzentration des Zellsaftes auf die Hälfte der totalen Konzentrationsabnahme gesunken ist. Für diese kennen wir $\bar{y}_2$, nämlich

$$\bar{y}_2 = \frac{\bar{V}_2' - \bar{V}_2}{2}$$

In (6) eingesetzt, erhalten wir für die Halbwertszeit:

$$\tau' = \frac{\ln 2}{QP_2}$$

In diesem Ausdruck kommen keine Konzentrationen vor. Dies bedeutet, daß die relative zeitliche Konzentrationsänderung des Wassers im Zellsaft, d. h.

$$\frac{\bar{V}_2' - \bar{V}_2}{\bar{y}_2 - \bar{V}_2}$$

von der effektiven Größe des Wasserkonzentrationsunterschiedes $\bar{V}_2' - \bar{V}_2$ unabhängig ist.

Von dieser Tatsache können wir Gebrauch machen und erhalten so eine Möglichkeit, die Wasserpermeationskonstante nach Formel (6) zu berechnen. Zu diesem Zweck denken wir uns, daß die betrachtete Zelle einen Zellsaft besitze, dessen Chemismus dem des Plasmolytikums entspreche, also z. B. Rohrzucker als osmotisch wirksamen Stoff enthalte, wenn das Plasmolytikum eine Rohrzuckerlösung ist. Dies anzunehmen steht uns völlig frei. Mit dieser Annahme aber werden alle Konzentrationen der Gleichung (6) berechenbar. An Stelle der unbekannten Konzentrationen im Zellsaft treten die entsprechenden bekannten des Plasmolytikums. Gleichung (6) geht somit über in

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{V_2' - V_2}{y_2 - V_2} \qquad (6\,a)$$

Es bedeuten hier nun V_2 die Wasserkonzentration des Plasmolytikums, mit dem wir die Plasmolyse durchführen, V_2' die Wasserkonzentration des Plasmolytikums, in dem der Protoplast seine anfängliche Größe besitzt, also z. B. des Plasmolytikums, dessen Konzentration dem osmotischen Wert der Zelle entspricht, sofern wir das Zellvolumen als Anfangsvolumen des Protoplasten (Grenzplasmolyse) betrachten wollen.

Die variable Wasserkonzentration y_2 ergibt sich aus der Überlegung, daß das absolute Volumen des osmotisch wirksamen Stoffes im Zellsaft während der Volumänderung des Protoplasten konstant bleibt, sich somit

dessen relatives Volumen umgekehrt proportional zum Protoplastenvolumen verhält. Bedeutet v_o das Protoplastenvolumen zu Beginn des Versuchs, v_t dasselbe zur Zeit t, $\bar{y}_2$ das variable relative Volumen des Wassers im Zellsaft, $\bar{y}_z$ das variable relative Volumen des osmotisch wirksamen Stoffes im Zellsaft und $\bar{V}'_z$ dasselbe zu Beginn des Versuchs, so gilt:

$$\frac{v_t}{v_o} = \frac{\bar{V}'_z}{\bar{y}_z} = \frac{\bar{V}'_z}{1 - \bar{y}_2}$$

oder

$$\bar{y}_2 = 1 - \frac{v_o}{v_t} \bar{V}'_z \qquad (7)$$

Für unsere Zelle mit dem fiktiven Zellsaft, dessen Chemismus dem des Plasmolytikums entspricht, tritt an Stelle von $\bar{V}'_z$ das relative Volumen V_d des Plasmolytikums, in dem das Protoplastenvolumen seine Anfangsgröße v_o besitzt. Wir erhalten dann

$$y_2 = 1 - \frac{v_o}{v_t} V_d \qquad (7\,a)$$

Damit haben wir alle notwendigen Bestimmungsstücke, um die Wasserpermeationskonstante nach Formel (6 a) berechnen zu können.

Wir wollen indessen die Gleichung (6 a) noch etwas vereinfachen und machen vom *Plasmolysegrad* Gebrauch. Höfler (1918) definierte als Plasmolysegrad das Verhältnis

$$g = \frac{v}{v_z}$$

d. h. das Volumverhältnis des Protoplasten zum Zellhohlraum. Dieses ist für zylindrische Zellen, wenn h die Zellänge, b die Zellbreite und l die variable Protoplastenlänge bedeutet,

$$g = \frac{l - \frac{b}{3}}{h}$$

Wir wollen den Begriff des Plasmolysegrades jedoch etwas weiter fassen und ihn definieren als

$$g = \frac{v_t}{v_o} \qquad (8)$$

Diese Definition ist mit der von Höfler gegebenen identisch, wenn das Anfangsvolumen des Protoplasten gleich dem der Zelle ist. Führen wir aber vor der eigentlichen Plasmolyse, im Sinne des Partialverfahrens von Hofmeister (1935), zunächst eine Vorplasmolyse durch, so ist dies nicht mehr der Fall, und der Plasmolysegrad ist dann gegeben durch

$$g = \frac{l_t - \frac{b}{3}}{l_o - \frac{b}{3}} \qquad (8\,a)$$

wobei l_t die Protoplastenlänge zur Zeit t und l_o zur Zeit $t = o$ bedeutet.

Machen wir vom Plasmolysegrad Gebrauch, so geht (7 a) über in

$$y_2 = 1 - \frac{V_d}{g} \qquad (7\,b)$$

Bezeichnen wir mit V_D das relative Volumen des gelösten Stoffes des Plasmolytikums, mit dem wir die Plasmolyse durchführen, und setzen wir (7 b) in die Gleichung (6 a) ein, so erhalten wir

$$\frac{V_2' - V_2}{y_2 - V_2} = \frac{(1 - V_d) - (1 - V_D)}{(1 - \frac{V_d}{g}) - (1 - V_D)} = \frac{V_D - V_d}{V_D - \frac{V_d}{g}}$$

Dieser Quotient ändert seinen Wert nicht, wenn wir an Stelle der relativen Volumina die entsprechenden volummolaren Konzentrationen setzen. Die Gleichung (6 a) geht dann in die folgende *Grundgleichung* für die Wasserpermeationskonstante P_2 über:

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{C_D - C_d}{C_D - \frac{C_d}{g}} \qquad (9)$$

Wir können diese Gleichung für den praktischen Gebrauch noch weiter vereinfachen. Bezeichnen wir die variablen Plasmolysegrade mit g, den Endplasmolysegrad mit G, und benützen wir die Beziehung von Höfler (1917)

$$O = C \cdot G$$

d. h. osmotischer Wert der Zelle ist gleich dem Produkt von Konzentration des Plasmolytikums und Endplasmolysegrad, so folgt die Beziehung

$$C_d = C_D G$$

Setzen wir diese Beziehung in Gleichung (9) ein, so erhalten wir für die Permeationskonstante die einfache Gleichung

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{1-G}{1-\frac{G}{g}} \qquad (10)$$

Diese Gleichung macht uns von der Kenntnis der Konzentration des verwendeten Plasmolytikums (Glyzerin !) unabhängig. Es genügt die Messung des Endplasmolysegrades G und eines beliebigen variablen g zur Zeit t.

3. Experimenteller Beweis der Gültigkeit des Fickschen Gesetzes für die Wasserpermeation

Lösen wir Gleichung (9) nach g auf, so erhalten wir für die Plasmolysekurve, bei Verwendung eines nichtpermeierenden Plasmolytikums, den Ausdruck

$$g_{Pl.} = \frac{C_d}{C_D - C_1 e^{-P_2 Qt}} \qquad (11)$$

C_1 bedeutet dabei C_D—C_d, d. h. die bei der Plasmolyse wirksame Konzentration des Plasmolytikums. Die graphische Darstellung dieser Gleichung ergibt eine Exponentialkurve, die sogenannte Eintrittskurve von Höfler (1930). Sofern die Wasserpermeation nach dem Fickschen Gesetz verläuft, müssen die experimentell ermittelten Plasmolysewerte $g_{Pl.}$ auf diese theoretische Kurve zu liegen kommen.

Empfindlicher und rechnerisch einfacher ist aber die Darstellung nach Gleichung (10). Setzen wir die experimentell ermittelten Plasmolysegrade in diese Gleichung ein und tragen wir den logarithmischen Ausdruck gegen P_2Qt graphisch auf, so müssen die so ermittelten Punkte auf einer *Geraden* liegen.

Material und Apparatur

An das Versuchsmaterial müssen folgende Forderungen gestellt werden:

1. genaue Volummessung während des gesamten Plasmolyseverlaufs;
2. gute Zuflußbedingungen;
3. keine Schädigungen während des Versuchsablaufes.

Der erste Punkt bedingt, daß die zu messende Zelle eine regelmäßige, am besten zylindrische Form besitzt und der Protoplast konvex plasmolysiert. Zylindrische Zellen, die eine für unsern Zweck genügend exakte Volummessung gestatten, findet man bei pflanzlichen Zellen

relativ wenige; Zellen aber, die einen konvexen Plasmolyseeintritt zeigen, sind eine Seltenheit. Meist tritt die Plasmolyse unregelmäßig ein, indem Konkavplasmolyse, seitliche Abhebung und dergleichen auftritt (vgl. Huber und Höfler, 1930). Von den zahlreichen untersuchten Objekten erwiesen sich die *Spirogyren* und *Zygnemen* in bezug auf die Plasmolyseform als die geeignetsten Objekte. Diese erfüllen auch die zweite Forderung auf das beste; die Zuflußbedingungen sind hier die denkbar besten. Das Plasmolytikum kommt sofort an die zu messende Zelle. Bei einem Schnitt ist dies nie der Fall, es verstreicht vielmehr immer eine gewisse Zeit, je nach Dicke des Schnittes und Lage der zu messenden Zelle (ob am Rand oder im Mittelfeld gelegen), bis das Plasmolytikum die Zelle erreicht, so daß die effektive Plasmolysezeit nicht genau bestimmt werden kann. Die *Konjugaten* haben indessen neben diesen Vorteilen den Nachteil ihrer großen Empfindlichkeit gegen mechanische und andere Einwirkungen und, wie Hofmeister (1937) zeigte, gegen die Plasmolyse überhaupt. Immerhin sind auch hier, je nach Jahreszeit und Fundort, recht resistente Formen zu finden, besonders *Zygnemen*, die denn auch zur Hauptsache das Versuchsmaterial dieser Arbeit bildeten. Die Bestimmung der Arten war mangels Zygotenbildung nicht möglich, was für den Zweck der Messungen, soweit es sich nur um die experimentelle Prüfung der Theorie handelt, auch nicht von Bedeutung ist.

Die Messungen wurden mittels der Durchströmungskammer, wie sie Ruhland und Hoffmann (1925) für ihre *Beggiatoa*-Untersuchungen benützten, ausgeführt. Der Zeitpunkt, zu dem das Plasmolytikum den Algenfaden erreicht, ist damit auf ± 1 Sekunde genau bestimmbar. Die Zeitmessung geschah mittels Stoppuhr oder, wo notwendig, namentlich bei den rasch verlaufenden Versuchen der gegensinnigen Permeation, mittels eines Metronoms.

Als nichtpermeierendes Plasmolytikum wurde durchwegs Traubenzuckerlösung gewählt und als permeierendes Glykollösung. Die Lösungen wurden volummolar mit Leitungswasser hergestellt. Die Messung selbst geschah in der Weise, daß nach der Methode von Höfler (1917, 1918) fortlaufend die Länge des plasmolysierten Protoplasten gemessen und daraus die entsprechenden Plasmolysegrade berechnet wurden.

Experimente

Versuch 1

Zygnema (Protokoll-Nr. 460 318) in 0,855 vol.mol. Traubenzuckerlösung. Zellgröße 26,5/10 Skalenteile (1 Skt. = 2,47 μ), Temp. 18° C.

Die *Zygnema* stammt aus dem Moorgebiet am Ausfluß des Greifensees. In einem schmalen Graben mit stehendem Wasser bildete sie nahe

der Oberfläche den ganzen Winter über größere Watten, die im Frühjahr 1946 nach brauner Verfärbung vollständig verschwanden. In frischem Zustand zeigten die *Zygnemen* sehr schöne, ideal meßbare Plasmolyse.

Wir wollen zunächst nach Formel (11) die theoretische Plasmolysekurve berechnen. Aus den experimentellen Werten berechnen sich die hierzu notwendigen Daten wie folgt:

$$C_d = C_D \cdot G = 0{,}855 \cdot 0{,}435 = 0{,}372 \text{ Mol/L (= osmot. Wert der Zelle)}$$

$$Q = \frac{2l_z + 4r}{rl_z + \frac{4}{3}r^2} = \frac{2 \cdot 12 + 4 \cdot 5}{5 \cdot 12 + \frac{4}{3} \cdot 25} \cdot \frac{1}{2{,}47 \cdot 10^{-4} \text{ cm}} = 1900 \text{ cm}^{-1}$$

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{1 - G}{1 - \frac{G}{g}} = \frac{60}{1900 \cdot 3} \ln 3{,}17 = 0{,}0121 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$$

Für die Plasmolysekurve folgt somit

$$g_{Pl.} = \frac{0{,}372}{0{,}855 - 0{,}483\, e^{-0{,}384\, t}}$$

wobei der Exponent so berechnet ist, daß die Zeit t in Minuten eingesetzt werden darf.

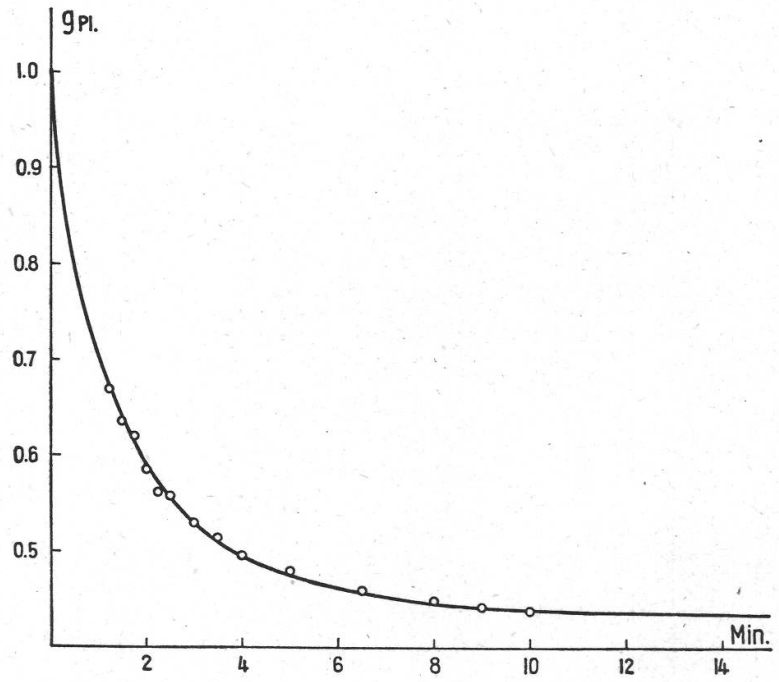


Abbildung 3
Plasmolyse einer *Zygnema* in 0,855molarer Traubenzuckerlösung

In Tabelle 1 sind die Meßdaten (Zeit und Protoplastenlängen) und die experimentellen und theoretischen Plasmolysegrade aufgeführt; in Abbildung 3 deren graphische Darstellung.

Einfacher ist die Darstellung nach Formel (10). Für den bloßen Nachweis der Gültigkeit des Fickschen Gesetzes genügt es, den Ausdruck

$$\log \frac{1 - G}{1 - \frac{G}{g}}$$

den wir einfachheitshalber mit log k bezeichnen wollen, gegen die Zeit t graphisch aufzutragen (Q, P_2 und nat.log brauchen für diesen Zweck nicht berechnet zu werden). Die berechneten Werte sind in der letzten Kolonne der Tabelle 1 aufgeführt und in Abbildung 4 deren graphische Darstellung. Die gestrichelten Linien entsprechen dabei den Fehlergrenzen für $\pm$ 0,1 Skalenteil Meßgenauigkeit der Längenmessungen. Die Punkte liegen also innerhalb der Fehlergrenze auf einer Geraden.

Tabelle 1

t Min. + Sek.	l Skalenteile	$g_{Pl.}$ exp.	$g_{Pl.}$ theor.	log k
0			1	0
1			0,707	
1.15	21,0	0,669		0,2076
1.30	20,1	0,635		0,2536
1.45	19,7	0,620		0,2765
2	18,8	0,585	0,590	0,3415
2.15	18,2	0,562		0,3951
2.30	18,0	0,557		0,4084
3	17,3	0,529	0,530	0,4980
3.30	16,9	0,514		0,5632
4	16,4	0,495	0,495	0,6637
5	16,0	0,480	0,475	0,7708
6			0,461	
6.30	15,5	0,460		0,9901
7			0,452	
8	15,2	0,449	0,447	1,2095
9	15,0	0,442	0,443	1,5231
10	14,9	0,438	0,441	1,7118
15			0,436	
18.30	14,8	0,435		

Versuch 2

Spirogyra (451 119) in 0,7 vol.mol. Traubenzuckerlösung. Zellgröße 80,5/28 Skalenteile (1 Skt. = 2,29 μ), Temperatur 14° C.

Diese breite dreibändrige *Spirogyra* stammt aus einem Teich des botanischen Gartens Zürich und wurde in unserem Institut zirka ein Jahr in einem mit *Elodea* beschickten Aquarium in Kultur gehalten.

Durch die Kulturhaltung in ihrer Lebenskraft offenbar geschwächt, ist sie infolge ihrer Empfindlichkeit gegen die Plasmolyse für ausgedehnte Versuche nicht zu gebrauchen. Es sei hier nur ein mit ungeschädigten Zellen durchgeführter Versuch mitgeteilt.

Die Auswertung ist hier und im folgenden nur noch nach Formel (10) durchgeführt. In Tabelle 2 sind die Meßdaten und die berechneten Plasmolysegrade und log-k-Werte aufgeführt. In dieser und den übrigen Tabellen wird, wenn nichts anderes vermerkt, die Zeit stets in Minuten,

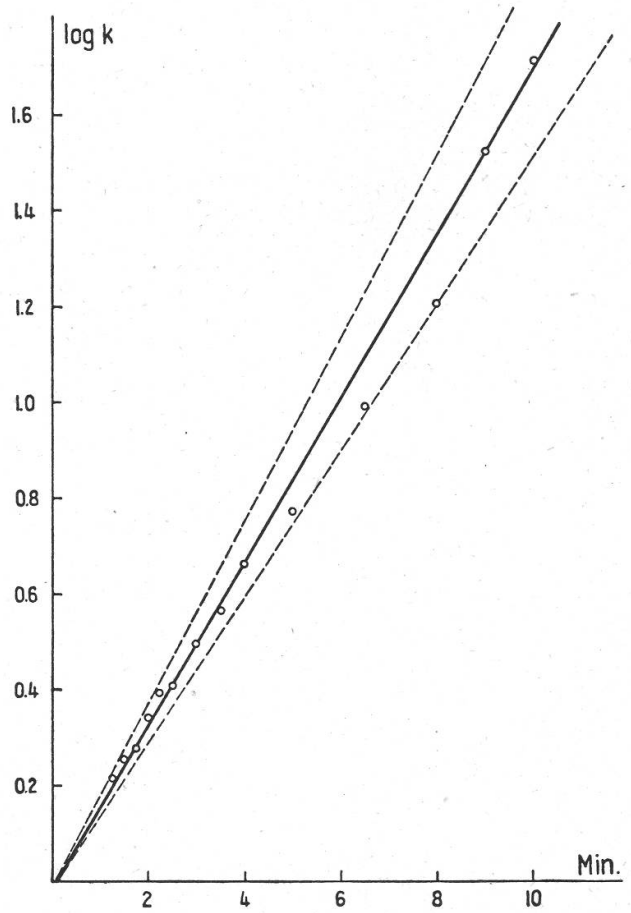


Abbildung 4.
Plasmolyse einer *Zygnema* in 0,855molarer Traubenzuckerlösung (logarithmische Darstellung)

bzw. Minuten und Sekunden angegeben und die Längen stets in Skalenteilen. Die graphische Darstellung (Abbildung 5) zeigt, daß mit Ausnahme der ersten beiden Punkte sämtliche übrigen Punkte innerhalb der Fehlergrenze (Meßgenauigkeit $\pm 0{,}15$ Skt.) auf einer Geraden liegen. Bei den beiden ersten Punkten war, wie im Meßprotokoll vermerkt ist, die Messung infolge Abplattung des einen Meniskus an der Zellquerwand nicht genau möglich.

Bei diesem Versuch mit dem langsameren Plasmolyseablauf sehen wir deutlicher als beim Versuch 1, daß die Gerade nicht durch den Nullpunkt geht, sondern durch den Zeitpunkt, bei dem Grenzplasmolyse ($g = 1$) eintritt. Es ist der besondere Vorteil dieser Darstellungsart,

diesen Zeitpunkt, der experimentell meist nicht genau bestimmt werden kann, graphisch durch Extrapolation zu finden und damit auch die genaue effektive Plasmolysezeit.

Tabelle 2

t	l	g	log k
10	79,8	0,875	0,3243
12	79,5	0,872	0,3324
15	78,5	0,860	0,3927
18	77,2	0,844	0,4885
21	76,1	0,830	0,5922
24	75,3	0,820	0,6990
26	74,6	0,811	0,8274
28	74,3	0,807	0,9015
30	74,0	0,804	0,9708
31	74,0	0,804	0,9708
32	73,9	0,803	0,9903
33	73,6	0,798	1,1277
36	73,3	0,795	1,2355
39	73,2	0,794	1,2945
42	73,1	0,792	1,3541
45	73,0	0,791	1,4297
50	72,7	0,788	1,8142
70	72,5	0,785	

Versuch 3

Zygnema (470 402) im Partialverfahren von 0,4- in 0,6molare Traubenzuckerlösung übertragen (Serienmessung).

Diese *Zygnema,* ein ideales, sehr resistentes Meßobjekt, stammt ebenfalls vom Moorgebiet am Greifenseeausfluß. In einem breiten Graben (früher Torfaushub, jetzt Schuttablagerung) mit stehendem Wasser war sie nach der Eisschmelze im März 1947 als kleine Watte, bei einer Wassertiefe von 10 cm, zu finden.

Bei den bisherigen Versuchen konnte die Messung erst nach völliger Abrundung der Menisken beginnen. Um den ganzen Plasmolyseablauf messend verfolgen zu können, sind die nachfolgenden Messungen nach dem Partialverfahren von Hofmeister (1935) durchgeführt. Die Algen wurden zunächst in einer 0,4molaren Traubenzuckerlösung vorplasmolysiert, und nach Einstellung des Gleichgewichtszustandes wurde diese Lösung durch eine 0,6molare Traubenzuckerlösung ersetzt und die jetzt eintretende Protoplastenverkleinerung messend verfolgt. Bezüglich der Berechnung des Plasmolysegrades siehe Formel (8 a).

Von 14 ausgeführten Messungen wurden deren 12 verwertet. Die übrigen zwei zeigten gegen Schluß der Messungen Permeabilitätserhöhung und wurden ausgeschaltet. In Tabelle 3 sind die gemessenen Protoplastenlängen, im Tabellenkopf die Zellgrößen in Skalenteilen (1 Skt. = 2,47 μ) nebst der Temperatur aufgeführt. Auf eine Wiedergabe der nach (10) berechneten logarithmischen k-Werte ist hier raumeshalber verzichtet. Sie sind in Abbildung 6 gegen die Zeit t graphisch aufgetragen.

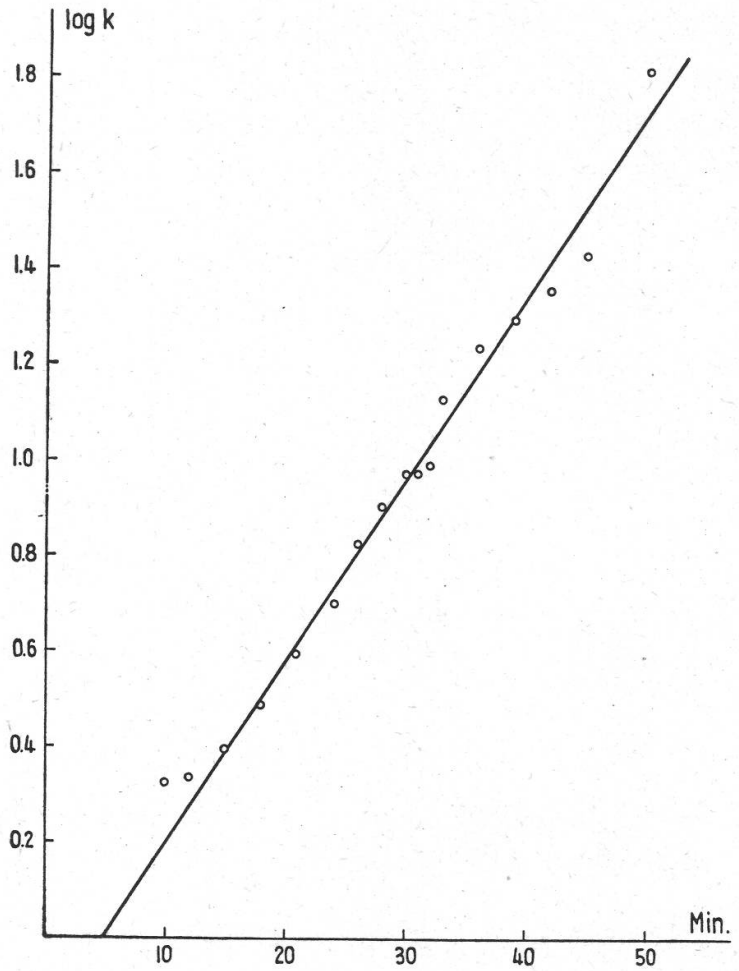


Abbildung 5
Plasmolyse einer *Spirogyra* in 0,7molarer Traubenzuckerlösung (log. Darstellung).

Aus der graphischen Darstellung ist ersichtlich, daß die gemessenen Werte, mit Ausnahme derjenigen der ersten Minute, auf einer Geraden liegen. Der auffällig langsamere Verlauf der Plasmolyse innerhalb der ersten Minute ist verständlich. Bei der Vorplasmolyse mit der 0,4molaren Traubenzuckerlösung wird der Protoplast so weit plasmolysiert, daß er noch zirka 75 % des Zellvolumens einnimmt. Der Raum zwischen plasmolysiertem Protoplasten und Zellwand, der sog. Vorraum, der demnach 25 % des Zellvolumens einnimmt, enthält ebenfalls 0,4molare Traubenzuckerlösung. Wird nun die 0,4molare Lösung durch die 0,6molare ersetzt, so ist bis zum Ausgleich der Vorraumkonzentration nicht der volle Konzentrationsunterschied zwischen plasmolysierender Außen-

lösung und Zellsaft wirksam, sondern ein geringerer, die Plasmolyse wird deshalb langsamer verlaufen. Diese Anfangsverzögerung zeigt aber auch, daß hier bei diesem Objekt für die Wasserpermeation ebenfalls die Protoplasmadurchlässigkeit der begrenzende Faktor ist und nicht die Zellwanddurchlässigkeit (vgl. Höfler, 1930, S. 345; Huber, 1933).

Tabelle 3

Zeit Minuten	1 29,0/11,4 18°	2 31,0/11,0 18°	3 33,5/11,2 19°	4 39,0/11,1 19°	5 35,0/12,0 19°	6 35,0/11,7 19°
0	25,0	27,0	28,5	27,0	29,6	28,1
0,5	24,2	26,2	27,0	25,8	28,3	27,0
1	23,0	25,0	26,0	24,0	27,0	25,8
1.5	21,6	23,2	24,5	22,7	25,2	24,7
2	20,6	22,2	23,3	21,7	24,0	23,5
2,5	20,0	21,3	22,8	21,1	23,2	22,8
3	19,6	21,0	22,2	20,8	23,0	
3,5	19,4	20,8	21,9			21,8
4	19,2	20,5	21,8	20,5	22,4	21,6
4,5	19,1	20,3	21,7			
5	19,0	20,2	21,6	20,3	22,2	21,3
8	18,9	20,1	21,4	20,2	22,0	21,0

Zeit Minuten	7 30,0/11,6 20°	8 35,5/11,7 20°	9 28,0/11.7 20°	10 32,5/11,0 20°	11 31,0/11,7 20°	12 31,0/12,0 20°
0	25,0	32,0	25,0	28,2	28,0	27,0
0,5	24,8	31,0	24,2	26,8	27,2	26,2
1	23,3	29,0	22,7	24,9	25,7	24,6
1,5	22,0	27,2	21,1	23,3	23,4	22,9
2	21,0	26,0	20,3	22,3	22,7	21,8
2,5	20,5	25,0	19,8	21,9	22,0	21,2
3	20,0	24,7	19,5	21,6	21,7	21,0
3,5	19,7	24,3	19,3	21,5	21,5	20,7
4	19,5	24,2	19,2	21,3	21,4	20,5
4,5	19,3	24,1				20,4
5	19,1		19,1	21,2	21,2	
8	18,9	23,9	19,0	21,2	21,2	20,2

Versuch 4

Spirogyra (460 513) in 0,5 vol.mol. Traubenzuckerlösung. Zellgröße 73,5/24,3 Skalenteile (1 Skt. = 2,47 μ), Temperatur 20° C.

Diese recht lebenskräftige *Spirogyra* mit zirka 5—8 fast längslaufenden Bändern kommt in zirka 2 m Entfernung vom Fundort der *Zygnema* des Versuchs 3, bei einer Wassertiefe von 50—80 cm, seit Jahren in großer Menge vor.

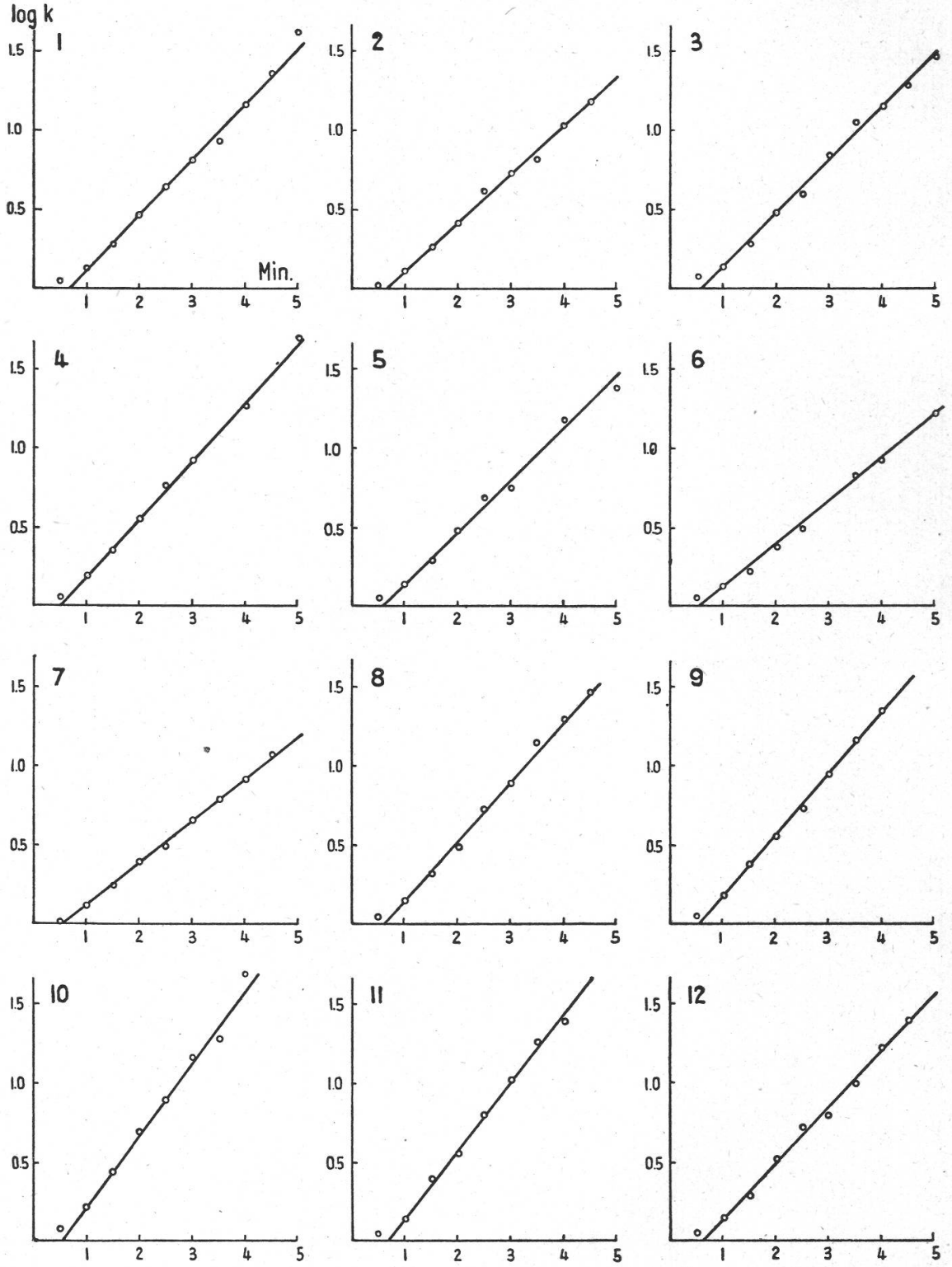
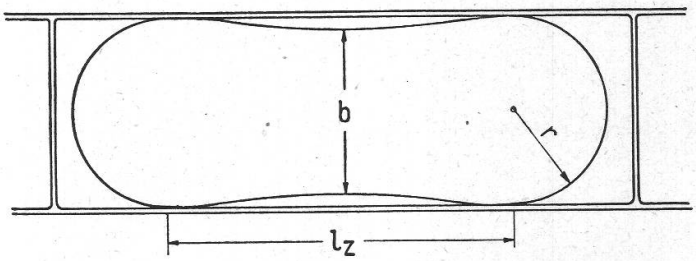


Abbildung 6
Plasmolyse von *Zygnemen* in 0,6molarer Traubenzuckerlösung (log. Darstellung)

Die Auswertung der Messung an dieser *Spirogyra* zeigt, wie wichtig es ist — will man nicht zu falschen Schlußfolgerungen gelangen —, daß das Volumen des Protoplasten genau bestimmt werden kann. Tragen wir die aus den fortlaufenden Längenmessungen errechneten Werte wie bisher graphisch auf, so zeigt sich, daß die Punkte nicht auf eine Gerade zu liegen kommen (Abbildung 8). Einen ähnlichen Kurvenverlauf trifft man etwa bei lebensschwachen Objekten, die durch die Plasmolyse ge-

Abbildung 7
Plasmolysierter Protoplast mit seitlicher Einschnürung



schädigt werden und demzufolge im Plasmolyseablauf Permeabilitätserhöhung zeigen. Bei diesem Objekt, das durchwegs diesen Kurvenverlauf zeigt, liegt die Ursache indessen nicht in einer solchen Permeabilitätserhöhung, noch etwa darin, daß die Permeation nicht dem Fickschen Gesetz folgt, sondern einzig in der ungenauen Volumbestimmung. Diese *Spirogyra* zeigt nämlich bei der Plasmolyse stets eine geringfügige seitliche Einschnürung in Form einer Cassinischen Kurve (Abbildung 7).

Tabelle 4

t	l	b	g	log k
1.15		24,3	1	0
6	73,5		0,890	0,124
7	72,8	21,5	0,880	0,136
8.30	71,0	21,0	0,857	0,176
10.30	68,0	21,0	0,815	0,260
12.30	65,7	21,8	0,784	0,349
15	63,1	22,3	0,750	0,476
18.30	60,4	22,7	0,712	0,712
22	58,8	23,2	0,690	0,970
25	58,0		0,679	1,225
28.30	57,8	24,1	0,676	1,322
32	57,4		0,670	1,682
36	57,0	24,3	0,665	

In Tabelle 4 sind die Breiten b, gemessen an der engsten Einschnürungsstelle, aufgeführt. Diese Einschnürung, die im mikroskopischen Bild nur geringfügig erscheint, muß bei der Volumberechnung berücksichtigt

werden. Wir wollen diese Volumkorrektur für zwei Punkte durchführen, für die Messungen der 8,5. und 15. Minute. Für eine angenäherte Volumkorrektion genügt es, die seitliche Abhebung in Form eines rotierenden Dreiecks zu berechnen. Das Volumen dieses Rotationsdreiecks ist:

$$V = l_z \left(r - \frac{b}{2} \pi \left(r - \frac{1}{3}\left(r - \frac{b}{2}\right)\right)\right)$$

Bringen wir die so berechneten Volumkorrekturen an den Messungen der 8,5. und 15. Minute an, so erhalten wir die korrigierten Werte:

t	g	log k
8,5 Min.	0,774	0,379
15,0 Min.	0,709	0,733

Die Messungen der 1¼., 25., 28½. und 32. Minute bedürfen keiner Korrektur. Zieht man durch diese Punkte eine Gerade, wie es in der

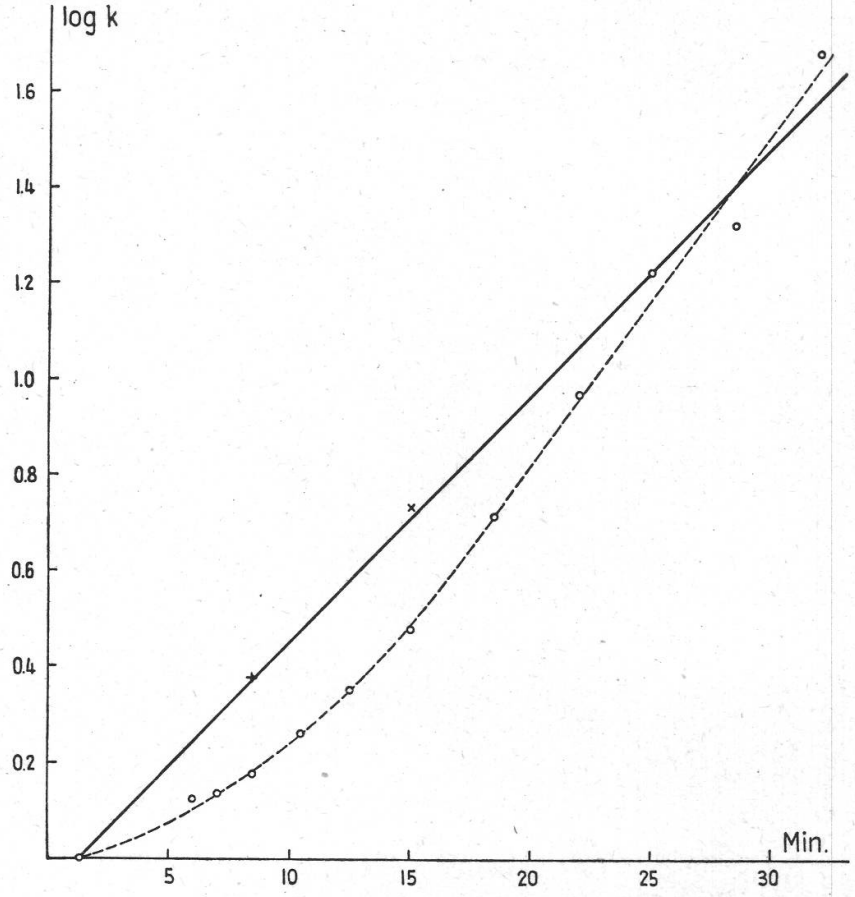


Abbildung 8
Plasmolyse einer *Spirogyra* in 0,5-molarer Traubenzuckerlösung mit seitlicher Einschnürung des Protoplasten (log. Darstellung)

graphischen Darstellung (Abbildung 8) geschehen ist, so kommen die zwei korrigierten Werte innerhalb der Fehlergrenze auf diese Gerade zu liegen, ein Beweis, daß die abweichende Lage der nicht korrigierten Werte nur auf die ungenaue Volumberechnung zurückzuführen ist.

C. Messung und Berechnung der Wasserpermeationskonstanten

1. Plasmolyse

Die Plasmolysekurve bei Verwendung eines nicht permeierenden Plasmolytikums wird durch die Formel (11) dargestellt. Aus dieser Kurve, bzw. aus den gemessenen Daten kann die Wasserpermeationskonstante nach der Formel

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{C_D - C_d}{C_D - \frac{C_d}{g}} \qquad (9)$$

berechnet werden, oder nach der Formel

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{1 - G}{1 - \frac{G}{g}} \qquad (10)$$

Beide Formeln setzen voraus, daß im Moment $t = 0$ der Plasmolysegrad $g = 1$ ist. Das ist, sofern wir nicht das Partialverfahren anwenden, beim Eintragen der Zelle ins Plasmolytikum nicht der Fall, denn es geht eine gewisse Zeit, bis der Turgor der Zelle ausgeglichen ist und Grenzplasmolyse ($g = 1$) eintritt; bei der *Spirogyra* des Versuchs 2 zum Beispiel 5 Minuten, bei der *Spirogyra* des Versuchs 4 1¼ Minuten, bei den rasch plasmolysierenden *Zygnemen* nur Bruchteile einer Minute. Auf die Messung der Zeit, bei der Grenzplasmolyse eintritt, ist also besonderes Augenmerk zu legen. Meist ist diese Zeit nicht sehr genau zu messen. Sie kann aber, falls die ganze Kurve messend verfolgt wurde, durch Aufzeichnung in Form einer Geraden, wie es unsere Beispiele zeigen, mittels Extrapolation genau bestimmt werden. Wir haben dann zudem den Vorteil, bei Benützung eines auf der Geraden liegenden Wertes die Permeationskonstante sehr genau bestimmen zu können, denn die Gerade stellt ja den Mittelwert sämtlicher gemessenen Einzelwerte dar.

Beispiel: *Spirogyra* des Versuchs 2.

Aus Abbildung 5 ersehen wir, daß die Grenzplasmolyse nach 5 Minuten eintritt. Bei 35 Minuten (also 30 Minuten effektive Plasmolysezeit) beträgt $\log k = 1{,}15$. Die Konstante P_2 berechnet sich nach (10) bei einer Oberflächenentwicklung $Q = 727\ cm^{-1}$ wie folgt:

$$P = \frac{2}{727} \cdot 2{,}3 \cdot 1{,}15 = \underline{0{,}0073\ cmh^{-1}}$$

Die Schwierigkeit der genauen Bestimmung des Grenzplasmolysezeitpunktes können wir, ohne zur graphischen Darstellung genötigt zu sein, durch einfache Umformung der Gleichung (10) umgehen. Es ist

$$t_1 = \frac{1}{P_2 Q} \ln \frac{1 - G}{1 - \frac{G}{g_1}}$$

$$t_2 = \frac{1}{P_2 Q} \ln \frac{1 - G}{1 - \frac{G}{g_2}}$$

Für die Permeationskonstante können wir demnach schreiben:

$$P_2 = \frac{1}{Qt_{2-1}} \ln \frac{1 - \frac{G}{g_1}}{1 - \frac{G}{g_2}} \qquad (12)$$

Diese Formel hat den großen Vorteil, uns vom Plasmolysebeginn unabhängig zu machen, die Messung kann vielmehr zu einem beliebigen Zeitpunkt beginnen. Um auch hier einen guten Mittelwert zu erhalten, können wir die Messung auf mehrere Zeitabschnitte erstrecken, d. h. die Plasmolysegrade g_1, g_2, g_3 usw. messen und, wie folgendes Beispiel zeigt, auswerten.

Beispiel: *Zygnema* 12 des Versuchs 3 ($G = 0{,}705$)

t	g	$1 - \frac{G}{g}$	k
1	0,895	0,212	1,49
1,5	0,821	0,142	1,58
2	0,775	0,090	1,55
2,5	0,748	0,058	1,24
3	0,740	0,047	1,57
3,5	0,726	0,030	1,67
4	0,718	0,018	

Der k-Mittelwert ist 1,51, die Permeationskonstante berechnet sich demnach wie folgt ($Q = 1625\ cm^{-1}$):

$$P_2 = \frac{2.60}{1625} \cdot 2{,}3 \log 1{,}51 = \underline{0{,}0304\ cmh^{-1}}$$

In der Literatur (z. B. Wartiovaara, 1944) wird gelegentlich von der Halbwertszeit τ Gebrauch gemacht, d. h. von der Zeit, in der die Hälfte der Volumverkleinerung des Protoplasten erreicht wird. Die auf Seite 83 erwähnte Halbwertszeit τ', die sich auf die Konzentrationsabnahme bezieht, ist mit der hier benützten Halbwertszeit τ, die sich auf die Volumabnahme bezieht, nicht identisch. Zur Halbwertszeit τ ist $g = 1 - \frac{1-G}{2}$. Setzen wir diesen Ausdruck in Gleichung (10) ein, so erhalten wir für die Permeationskonstante eine einfache Formel:

$$P_2 = \frac{1}{Q\tau} \ln (1 + G) \qquad (13)$$

Beispiel: *Zygnema* des Versuchs 1.

Aus Abbildung 3 entnehmen wir bei $g = 0{,}717$ die Halbwertszeit $\tau = 0{,}95$ Minuten. Der Endplasmolysegrad beträgt $G = 0{,}435$ und $Q = 1900\ cm^{-1}$, die Permeationskonstante also :

$$P_2 = \frac{60}{1900 \cdot 0{,}95} \ln 1{,}435 = \underline{0{,}0121\ cmh^{-1}}$$

Wir müssen hier noch auf eine kurze Besprechung der *Plasmakorrektur* eingehen (vgl. Walter, 1923; Netter, 1927; Huber und Höfler, 1930; McCutcheon, Lucké und Hartline, 1931; Lucké und McCutcheon, 1932; Resühr, 1935). Für die Ableitung unserer Gleichungen haben wir die Beziehung $O = C \cdot G$ benützt, d. h. wir machten die vereinfachte Annahme, daß sich der Gesamtprotoplast bei der Plasmolyse der Außenkonzentration umgekehrt proportional verkleinere. Tatsächlich verkleinert sich aber nur der Zellsaftraum in diesem Maße. Dies wird besonders deutlich bei den plasmareichen tierischen Zellen (Seeigel-Ei, Blutkörperchen), bei denen die osmotisch inaktive Substanz einen beträchtlichen Anteil des Zellvolumens ausmacht. Bringt man diesen « nichtlösenden Raum » b der osmotisch unwirksamen Stoffe vom Protoplastenvolumen in Abzug, so kann das Boyle-van't-Hoffsche Gesetz experimentell vollauf bestätigt werden, d. h. es gilt die Beziehung

$$C_1 (v_1 - b) = C_2 (v_2 - b)$$

Diese Beziehung gestattet, den osmotisch unwirksamen Anteil am Protoplastenvolumen, durch Messung dieses Volumens in zwei verschiedenen Konzentrationen, in einfacher Weise zu bestimmen. Es ist:

$$b = \frac{C_2 v_2 - C_1 v_1}{C_2 - C_1} \qquad (14)$$

Über die Größe von b für unsere Versuchsobjekte gibt nachfolgender Versuch Aufschluß.

Versuch 5

Spirogyren des Versuchs 4 wurden in einer 0,5molaren Traubenzuckerlösung vorplasmolysiert. Das Volumen der Protoplasten im Gleichgewichtszustand mit dieser Lösung wurde gleich $v_0 = 1$ gesetzt. Hierauf wurde der Algenfaden in eine 0,8molare Traubenzuckerlösung übertragen und wieder der Gleichgewichtszustand abgewartet. An 10 Fäden wurden je 10 Zellen gemessen. Die in der 0,8molaren Lösung

erreichten Endplasmolysegrade sind in der Tabelle 5 aufgeführt. In der untersten Zeile ist der durchschnittliche prozentuale Anteil b des osmotisch unwirksamen Stoffes am Gesamtvolumen des Protoplasten aufgeführt.

Tabelle 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,638	0,638	0,638	0,654	0,654	0,660	0,646	0,643	0,654	0,665
0,639	0,644	0,646	0,657	0,651	0,667	0,644	0,643	0,658	0,659
0,644	0,645	0,642	0,647	0,655	0,650	0,646	0,641	0,639	0,655
0,637	0,655	0,645	0,645	0,660	0,655	0,640	0,645	0,652	0,650
0,642	0,648	0,645	0,661	0,652	0,657	0,655	0,644	0,658	0,650
0,647	0,646	0,644	0,658	0,647	0,656	0,636	0,643	0,644	0,654
0,642	0,648	0,647	0,650	0,643	0,660	0,636	0,627	0,640	0,657
0,636	0,637	0,639	0,648	0,654	0,660	0,642	0,637	0,643	0,652
0,645	0,625	0,641	0,650	0,657	0,656	0,643	0,635	0,650	0,659
0,635	0,640	0,644	0,643	0,642	0,657	0,643	0,641	0,636	0,658
0,641	0,643	0,643	0,651	0,651	0,658	0,643	0,640	0,647	0,656
4,2 %	4,7 %	4,7 %	7,0 %	7,0 %	8,7 %	4,7 %	4,0 %	6,0 %	8,3 %

Der Plasmaanteil dieser *Spirogyra* mit dem Durchschnittswert b = 5,9 % ist sehr gering. Höher ist er bei der *Zygnema* des Versuchs 3 mit einem Durchschnittswert von b = 13 %. Die *Zygnemen* Nrn. 1 bis 12 dieses Versuchs erreichten, nach Vorplasmolyse in 0,4molarer Traubenzuckerlösung, in der 0,6molaren Lösung die in Tabelle 6 aufgeführten Endplasmolysegrade. Daraus berechnen sich die in der letzten Kolonne aufgeführten b-Werte.

Tabelle 6

Nr.	G	b
1	0,712	13,6 %
2	0,704	11,2 %
3	0,712	13,6 %
4	0,709	12,7 %
5	0,704	11,2 %
6	0,706	11,8 %
7	0,711	13,3 %
8	0,712	13,6 %
9	0,715	14,5 %
10	0,715	14,5 %
11	0,718	15,4 %
12	0,705	11,5 %

Berechnen wir nun die Permeationskonstanten mit und ohne Plasmakorrektur, so zeigt sich, daß die schließlichen Unterschiede der Konstanten sehr gering sind. Die *Zygnema* 12 des Versuchs 3 hat z. B. die Permeationskonstante $P_2 = 0{,}0316$ cmh^{-1} ohne Korrektur und 0,0306 cmh^{-1} mit Plasmakorrektur oder die *Zygnema* 7 desselben Versuchs 0,0222 cmh^{-1} ohne, bzw. 0,0214 cmh^{-1} mit Korrektur. Wenn wir beachten, daß beim selben Objekt die Konstanten innerhalb der Grenzen $P_2 = 0{,}0222$ cmh^{-1} (*Zygnema* 7) und 0,0366 cmh^{-1} (*Zygnema* 10) liegen, so ist ersichtlich, daß, in Übereinstimmung mit Huber und Höfler (1930), eine Berücksichtigung der Plasmakorrektur für die Berechnung der Permeationskonstanten überflüssig ist. Auch für den Nachweis der Gültigkeit des Fickschen Gesetzes nach Formel (10) kann, wie sich empirisch zeigt, auf eine Plasmakorrektur verzichtet werden (vgl. Abbildung 6 ohne und Abbildung 10 mit Plasmakorrektur). Notwendig ist aber deren Berücksichtigung bei Verwendung der Formel (11) im Partialverfahren. C_d bedeutet dann die Konzentration des Plasmolytikums, mit dem wir die Vorplasmolyse durchführen, d. h. für das $g = 1$ ist. Um Übereinstimmung der experimentellen mit den theoretischen Werten zu erzielen, muß die Beziehung $C_d = C_D(G - b)$ benützt werden, oder aber wir können, wie es im Totalverfahren meist geschieht und im Versuch 1 durchgeführt wurde, für C_d statt des wahren Wertes den aus der Beziehung $C_d = C_D G$ berechneten verwenden und auf eine Plasmakorrektur verzichten, was für den bloßen Nachweis des Fickschen Gesetzes durchaus genügt. Ist indessen die wahre Konzentration C_d bekannt, wie es beim Partialverfahren stets der Fall ist, so ist die Anbringung der Plasmakorrektur von Vorteil, was praktisch sehr einfach geschieht, indem sämtliche gemessenen Längen um b % der Anfangslänge des Protoplasten verkleinert werden.

2. Deplasmolyse

Übertragen wir eine plasmolysierte Zelle von der plasmolysierenden nichtpermeierenden Lösung in eine solche mit geringerer Konzentration, so geht die Plasmolyse infolge Wasseraufnahme der Zelle zurück, d. h. es tritt Deplasmolyse ein.

Für die mathematische Erfassung des Deplasmolysevorganges benützen wir die bei der Betrachtung der Plasmolyse gewählten Bezeichnungen. Es bedeutet demnach C_D, bzw. bei Benützung rel. Volumina V_D, die Konzentration des Plasmolytikums, C_d, bzw. V_d diejenige des Deplasmolytikums. Das Protoplastenvolumen nach vollendeter Deplasmolyse bezeichnen wir mit $v_\infty = 1$; den Plasmolysegrad zu Beginn der Deplasmolyse mit G, den variablen mit g, wobei also $g = v_t/\infty$ ist. $\overline{V}_2'$, $\overline{y}_2$, $\overline{V}_2$ bezeichnen die relativen Volumina des Wassers im Zellsaft

zu Beginn, zur Zeit t und am Ende der Deplasmolyse; $\overline{V}'_z$, $\overline{y}_z$, $\overline{V}_z$ die entsprechenden des osmotisch wirksamen Stoffes im Zellsaft.

Es gilt nun, der Formulierung der Plasmolyse entsprechend, für die Deplasmolyse:

$$d\overline{y}_2 = P_2 Q (\overline{V}_2 - \overline{y}_2) dt \tag{15}$$

und für die Permeationskonstante

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{\overline{V}_2 - \overline{V}'_2}{\overline{V}_2 - \overline{y}_2} \tag{16}$$

Setzen wir die Beziehung (7 b), die auch für die Deplasmolyse gültig ist, in diese Gleichung ein, und setzen wir an Stelle der Konzentrationen im Zellsaft, gemäß den Ausführungen bei der Plasmolyse, die entsprechenden des Plasmolytikums, so geht (16) bei Verwendung volummolarer Konzentrationen in die Gleichung

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{C_D - C_d}{\frac{C_d}{g} - C_d} \tag{17}$$

über. Bei Verwendung der Beziehung $C_d = C_D G$ geht diese Gleichung über in

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{\frac{1}{G} - 1}{\frac{1}{g} - 1} \tag{18}$$

oder für das Zeitintervall $t_2 - t_1$:

$$P_2 = \frac{1}{Qt_{2-1}} \ln \frac{\frac{1}{g_1} - 1}{\frac{1}{g_2} - 1} \tag{19}$$

Aus (17) folgt für die Deplasmolysekurve:

$$g_{Depl.} = \frac{C_d}{C_d + C_1 e^{-P_2 Qt}} \tag{20}$$

wobei C_1 wiederum $C_D - C_d$, d. h. die osmotisch wirksame Konzentration des Deplasmolytikums bedeutet.

Die Frage, ob die Wasserpermeation nach dem Fickschen Gesetz verläuft, hätte auch mittels der Deplasmolyse entschieden werden können. Wir wollen dies an einem Beispiel betrachten.

Versuch 6

Die *Zygnemen* des Versuchs 3 wurden nach Ablauf der Plasmolyse von der 0,6molaren in die 0,4molare Traubenzuckerlösung zurückversetzt und an denselben Zellen wie in Versuch 3 die Deplasmolyse messend verfolgt. Für die *Zygnema* 1 ergaben sich die in Tabelle 7 aufgeführten Meßdaten und die nach (20) berechneten theoretischen $g_{Depl.}$-Werte, wobei die Plasmakorrektur von $b = 13{,}6\,\%$ mitberücksichtigt ist. Aus der graphischen Darstellung (Abbildung 10) wurde $P_2 = 0{,}0200\ cmh^{-1}$ bestimmt. Aus dieser ist auch ersichtlich, daß die Anfangsverzögerung, infolge des Konzentrationsausgleiches im Vorraum, 8 Sekunden beträgt; diese Zeit ist bei der Berechnung der theoretischen $g_{Depl.}$-Werte in Berücksichtigung zu ziehen. Die logarithmischen k-Werte sind nach Formel (18) berechnet, wobei wir wieder, wie bei Formel (10), den logarithmischen Bruch mit k bezeichnen, d. h. Gleichung (18) in der Form

$$P_2 = \frac{1}{Qt} \ln k$$

schreiben. Abbildung 9 zeigt die berechnete Deplasmolysekurve und die mit dieser sehr gute Übereinstimmung zeigenden, experimentellen Werte.

Tabelle 7

t Min.	l Skt.	$g_{Depl.}$ exp.	$g_{Depl.}$ theor.	log k
0	18,9	0,666	0,666	0
0,5	19,7	0,711	0,725	0,090
1	20,8	0,771	0,777	0,224
1,5	21,5	0,810	0,819	0,330
2	22,2	0,848	0,858	0,444
2,5	22,9	0,885	0,888	0,586
3			0,912	
3,5	23,7	0,930	0,933	0,824
4	24,0	0,945	0,950	0,928
4,5	24,2	0,956	0,960	1,036
5	24,4	0,967	0,970	1,156
6	24,6	0,978	0,982	1,356
7,5	24,8	0,989		1,700
8			0,995	
10	25,0		0,999	

In Tabelle 8 folgen die Deplasmolyse-Meßdaten von 6 *Zygnemen* des Versuchs 3. Die k-Werte sind raumeshalber nur für *Zygnema* 1 in

Tabelle 7 aufgeführt, für die übrigen sind lediglich die Protoplastenlängen angegeben. In Abbildung 10 ist die graphische Darstellung gegeben und zum Vergleich — das ist der besondere Vorteil dieser Darstellungsart — zugleich die entsprechenden Plasmolysegeraden. Sowohl die Werte für die Deplasmolyse als auch diejenigen für die Plasmolysen sind hier mit Plasmakorrektur gerechnet. Es ist interessant, aus der Steilheit der Kurven der Abbildung 10 zu ersehen, daß die « Deplasmolyse-Permeabilität » dieselbe ist wie die « Plasmolyse-Permeabilität » oder aber sowohl größer als auch kleiner sein kann, nicht aber, wie Höfler (1930) fand, durchwegs größer. Weiter ersieht man, daß die durch den Ausgleich der Vorraum-Konzentration bedingte Anfangsver-

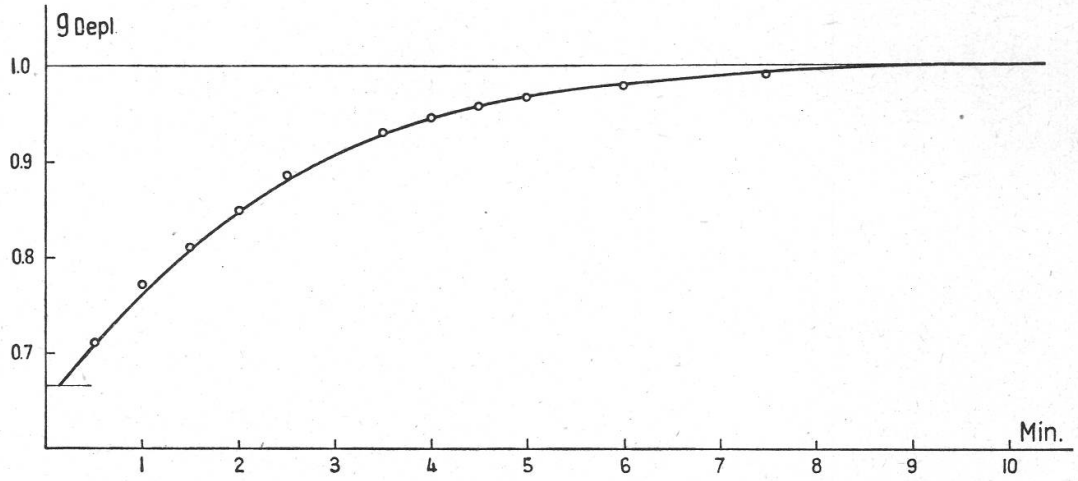


Abbildung 9
Deplasmolyse einer *Zygnema*

zögerung bei der Deplasmolyse interessanterweise wesentlich kleiner ist als bei der Plasmolyse, nämlich 8 bis 10 Sekunden gegenüber 36 bis 42 Sekunden bei der Plasmolyse.

Tabelle 8

t	1	3	6	7	11	12
0	18,9	21,4	21,0	18,9	21,2	20.2
0,5	19,7	22,6	22,0	19,6	22,5	21,5
1	20,8	23,9	23,2	20,8	24,2	23,1
1,5	21,5	25,2	24,6	21,8	25,5	24,1
2	22,2	26,1	25,3	22,3	26,4	25,0
2,5	22,9	26,8	26,0	22,9	26,9	25,7
3		27,2	26,6	23,6	27,3	26,1
3,5	23,7	27,6	27,0	23,8	27,6	26,3
4	24,0	27,8	27,2	24,0	27,8	26,6
4,5	24,2	28,0			27,9	26,8
5	24,4	28,3	27,4	24,2	27,9	
10	25,0	28,5	27,8	24,5	28,0	27,0

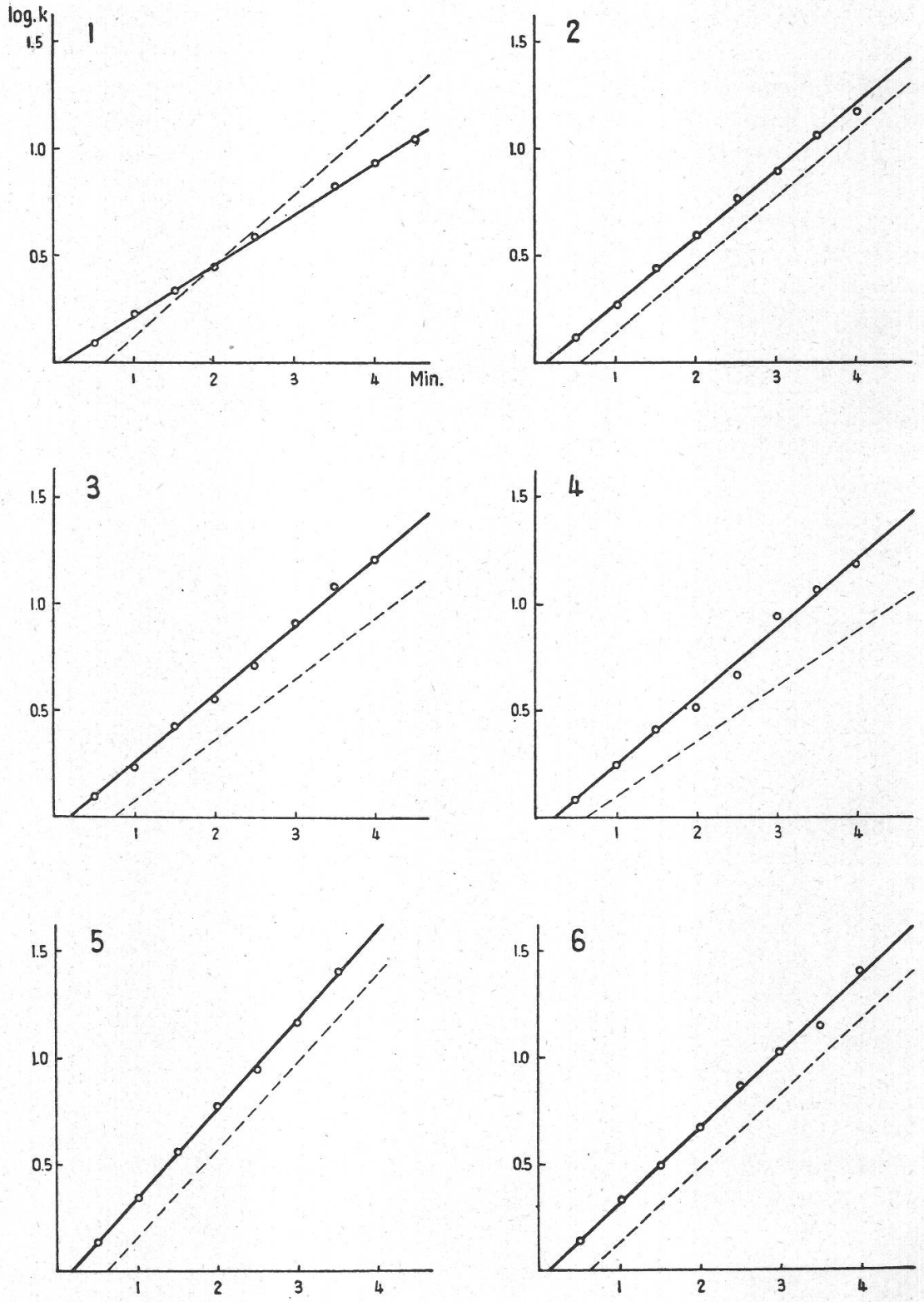


Abbildung 10
Deplasmolyse und (gestrichelt) Plasmolyse von *Zygnemen* (log. Darstellung)

3. Gegensinnige Permeation

Frey-Wyßling (1945, 1946) hat eine weitere Methode zur Bestimmung der Wasserpermeationskonstante entwickelt. Er ist dabei von den Verhältnissen bei der Plasmoptyse ausgegangen. Bei jener Erscheinung diffundiert das Plasmolytikum schneller in die Vakuole hinein, als das Wasser herauswandert. Dort sind also Stoffpermeabilität und Wasserpermeabilität von ähnlicher Größenordnung, und es ist daher sehr unbefriedigend, wenn man den einen Vorgang als Diffusionserscheinung, den andern dagegen nach herrschender Anschauung als von osmotischen Potentialen abhängige Erscheinung auffassen soll. Der Austausch wurde daher als gegensinnige Diffusion, d. h. als Ausgleich zweier gegenläufiger Partialkonzentrationsgefälle gedeutet.

Da bei den erwähnten Erscheinungen Alkohol schneller in die Zelle wandert, als Wasser heraus diffundiert, kommt es zu einer Drucksteigerung in der Zelle, die zum Platzen der Zellwand führen kann (Plasmoptyse). Wenn die Festigkeit der Zellmembran der Drucksteigerung gewachsen ist, entstehen charakteristische Turgorschwankungen, wie sie aus den Untersuchungen von Collander und Bärlund (1933) hervorgehen.

Bei solchen Permeationsversuchen verändert sich das Volumen des Protoplasten verglichen mit Plasmolysevorgängen nur unwesentlich, so daß v_z in Gleichung (3) in erster Näherung als konstant angenommen werden kann. Hieraus hat Frey-Wyßling die Gleichungen (4) und (5) hergeleitet. Will man nun die Betrachtungsweise der gegensinnigen Permeation auf Plasmolysevorgänge ausdehnen, muß man das variable Protoplastenvolumen v einführen und jene Beziehungen in Form der Gleichungen (4 b) und (5 b) verwenden:

$$d\bar{y}_1 = P_1 Q\ (\bar{V}_1 - \bar{y}_1)\ dt \qquad (4\,b)$$

$$d\bar{y}_2 = P_2 Q\ (\bar{y}_2 - \bar{V}_2)\ dt \qquad (5\,b)$$

Voraussetzung ist allerdings, daß der osmotisch wirksame Anteil des Zellsaftes denselben Chemismus besitze wie das permeierende Plasmolytikum. In Abbildung 11 ist die gegensinnige Permeation unter dieser Voraussetzung schematisch dargestellt. Das gestrichelte Feld stellt eine Volumeinheit des Plasmolytikums dar; das schwach umrandete die Zelle und das stark umrandete den Protoplasten.

a) Vorplasmolyse in 0,6molarer nichtpermeierender Traubenzuckerlösung mit dem relativen Volumen $V_d = 0{,}07$. Protoplastenvolumen $v_0 = 1$; relatives Volumen des Zellstoffes $\bar{V}' = 0{,}03$ (einer 0,6molaren Glykollösung entsprechend).

b) Plasmolyse in kombinierter Lösung von 0,6molarer nichtpermeierender Traubenzuckerlösung ($V_d = 0{,}07$) und 1,2molarer per-

meierender Glykollösung ($V_1 = 0{,}06$) unter der Annahme, daß vom Glykol noch nichts in die Zelle permeiert sei.

c) Wie *b*, aber es ist 0,04 relatives Volumen Glykol in die Zelle permeiert. Zur Wahrung des osmotischen Gleichgewichtes dringt gleichzeitig auch Wasser in die Zelle, es erhöht sich dadurch wohl das absolute Volumen des Wassers im Zellsaft, das relative Volumen desselben bleibt aber konstant.

d) Endzustand.

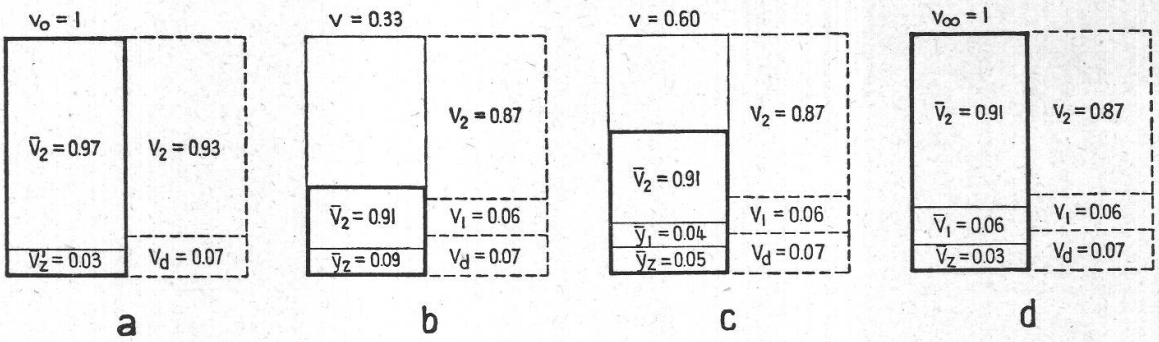


Abbildung 11

Schematische Darstellung der gegensinnigen Permeation unter der Annahme, daß der Chemismus des Zellsaftes mit dem des permeierenden Plasmolytikums identisch ist (nicht maßstäblich gezeichnet)

Integrieren wir die Gleichungen (4 b) und (5 b) und setzen wir die Ableitung der Summe $\bar{y}_1 + \bar{y}_2$ gleich Null, so erhalten wir den von Frey-Wyßling gefundenen Ausdruck

$$P_1 e^{-P_1 QT} = P_2 e^{-P_2 QT} \tag{21}$$

Die Betrachtung der gegensinnigen Permeation von Frey-Wyßling bezieht sich demnach nicht auf die experimentell feststellbare Protoplastenvolumkurve, sondern auf die $\bar{y}_1 + \bar{y}_2$-Kurve, bzw. die Zeit T, in der diese ihr Minimum erreicht. Diese Kurve ist aber, wie aus der Beziehung $dm = d\bar{y} \cdot v$, in der v variabel ist, folgt, mit ersterer nicht identisch. Die Frage ist also, ob die Protoplastenvolumkurve ihr Minimum zur selben Zeit durchläuft wie die $\bar{y}_1 + \bar{y}_2$-Kurve und damit Gleichung (21) für die Bestimmung der Wasserpermeationskonstante bei variablem v angewendet werden kann. Selbst wenn dies für den hier betrachteten Spezialfall zutreffen sollte, kommt der Formel (21) für den allgemeinen Fall doch nur Näherungscharakter zu. Im allgemeinen Fall, in dem der Zellsaft andern Chemismus besitzt als das permeierende Plasmolytikum, können die Gleichungen (4 b) und (5 b) nicht mehr voll befriedigen. Die Wasserkonzentration im Zellsaft bleibt hier, wie Ab-

bildung 12 zeigt, während der Deplasmolyse nicht mehr konstant, so daß Gleichung (5 b) nicht mehr völlig zutrifft. In Abbildung 12 gelten die gleichen Verhältnisse wie in Abbildung 11, nur ist der Chemismus des Zellstoffes mit dem relativen Volumen $\bar{V}'_z = 0{,}10$ beliebig angenommen.

Wie weit der Gleichung (21) Näherungscharakter zukommt, kann erst die Betrachtung der Protoplastenvolumkurve zeigen. Wir wollen nun den mathematischen Ausdruck für diese Kurve herleiten und gehen, in Anlehnung an obige schematische Darstellung des Permeationsvorganges, wie folgt vor:

a) Wir plasmolysieren eine Zelle in einem nicht permeierenden Plasmolytikum, z. B. in einer Zuckerlösung; die Konzentration sei C_d, bzw. V_d bei Verwendung relativer Volumina. Der Protoplast wird im osmotischen Gleichgewicht mit dieser Lösung ein be-

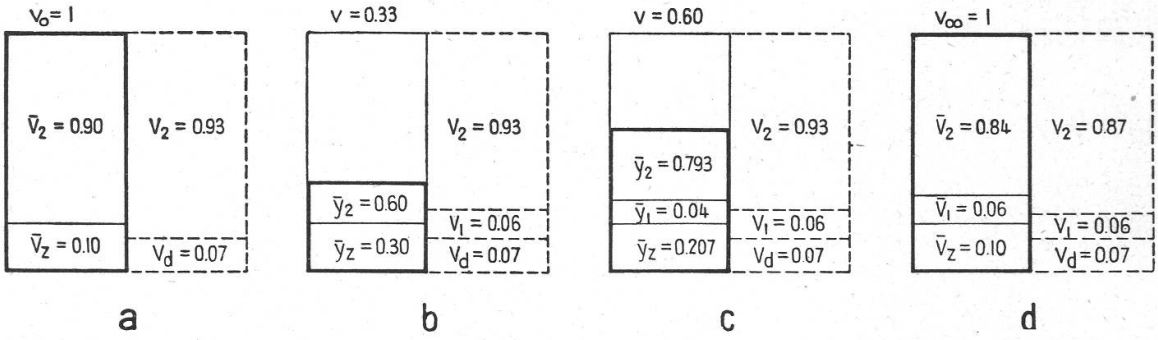


Abbildung 12
Schematische Darstellung der gegensinnigen Permeation unter der Annahme beliebigen Chemismus des Zellsaftes (nicht maßstäblich gezeichnet)

stimmtes Volumen einnehmen, dieses sei $v_0 = 1$. Das ist unser Anfangszustand.

b) Jetzt ersetzen wir die Zuckerlösung nach dem Partialverfahren von Hofmeister (1935) durch eine kombinierte Lösung eines permeierenden und des bisherigen, nicht permeierenden Stoffes, also z. B. durch eine Zucker + Glykol-Lösung; die entsprechenden Konzentrationen seien C_d für die Zuckerlösung und C_1 für den permeierenden Stoff, bzw. V_d und V_1 in relativen Volumina. Die Gesamtkonzentration des Plasmolytikums ist $C_D = C_d + C_1$. Wir machen zunächst die Annahme, vom Stoff 1 dringe nichts in die Zelle, d. h. wir betrachten nur die Wasserpermeation. Für diese gilt die Gleichung (11)

$$g_{Pl.} = \frac{C_d}{C_D - C_1 e^{-P_2 Qt}} \qquad (11)$$

c) In Wirklichkeit permeiert vom Stoff 1 (Glykol) in die Zelle hinein. Für die Stoffpermeation gilt auch hier, wie bei Ableitung der Gleichung (7), das Verhältnis

$$g_{Depl.} = \frac{v_t}{v_\infty} = \frac{\overline{C}_z}{\overline{x}_z} = \frac{\overline{C}_z}{\overline{C}_z + \overline{C}_1 - \overline{x}_1}$$

wobei die Symbole den bei der Betrachtung der Deplasmolyse zugelegten Sinn haben, also v_t und v_∞ das Protoplastenvolumen zur Zeit t und $t = \infty$ bedeuten; $\overline{x}_z$ die variable Konzentration und $\overline{C}_z$ die Gleichgewichtskonzentration zur Zeit $t = \infty$ des osmotisch wirksamen Stoffes im Zellsaft und $\overline{x}_1$ und $\overline{C}_1$ die entsprechenden des Stoffes 1 im Zellsaft.

Durch Integration der Gleichung (4 c) folgt für $\overline{x}_1$:

$$\overline{x}_1 = \overline{C}_1 (1 - e^{-P_1 Qt})$$

Für die Deplasmolysekurve erhalten wir somit, wenn wir an Stelle der Konzentrationen im Zellsaft die entsprechenden des Plasmolytikums setzen, die Gleichung

$$g_{Depl.} = \frac{C_d}{C_d + C_1 e^{-P_1 Qt}} \tag{22}$$

d. h. denselben Ausdruck, den wir für die Deplasmolysekurve der Wasserpermeation fanden, nur daß an Stelle von P_2 die Stoffpermeationskonstante P_1 steht. Die Formeln (17, 18, 19) für die Berechnung der Permeationskonstante aus der Deplasmolysekurve behalten also auch hier ihre Gültigkeit, nur erhalten wir, entsprechend der Natur des permeierenden Stoffes, nicht die Wasserpermeationskonstante, sondern die Stoffpermeationskonstante P_1. Es gilt also:

$$P_1 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{C_D - C_d}{\frac{C_d}{g} - C_d} \tag{23}$$

$$P_1 = \frac{1}{Qt} \ln \frac{\frac{1}{G} - 1}{\frac{1}{g} - 1} \tag{24}$$

$$P_1 = \frac{1}{Qt_{2-1}} \ln \frac{\frac{1}{g_1} - 1}{\frac{1}{g_2} - 1} \tag{25}$$

d) Diese beiden Vorgänge, Wasseraustritt und Stoffeintritt, verlaufen in Form der gegensinnigen Permeation gleichzeitig. Es wird also zu einer Überlagerung der beiden Einzelkurven kommen.

Für die Zeit $t = \infty$ geht Formel (11), bzw. für $t = 0$ die Formel (22) über in

$$g = \frac{C_d}{C_D}$$

Die Überlagerung der beiden Teilvorgänge, d. h. die Volumkurve des Protoplasten, wird demnach durch den Ausdruck

$$g_{Tot.} = \frac{C_d}{C_d + C_1 e^{-P_1 Qt}} + \frac{C_d}{C_D - C_1 e^{-P_2 Qt}} - \frac{C_d}{C_D} \tag{26}$$

dargestellt.

Setzen wir die Ableitung dieser Gleichung gleich Null, so erhalten wir für deren Minimum den Ausdruck:

$$\frac{P_1 e^{-P_1 QT}}{\left(C_d + C_1 e^{-P_1 QT}\right)^2} = \frac{P_2 e^{-P_2 QT}}{\left(C_d + C_1 (1 - e^{-P_2 QT})\right)^2} \tag{27}$$

Wir wollen die Nenner dieses Ausdruckes betrachten. Wenn die Permeationskonstanten die Werte $0 \rightarrow 1$ durchlaufen, so strebt e^{-PQT} von $1 \rightarrow 0$ und $1\text{-}e^{-PQT}$ von $0 \rightarrow 1$ (Abbildung 13). Am Schnittpunkt der beiden Kurven dieser Funktionen beträgt der Funktionswert ½, es gilt demnach die Beziehung :

$$e^{-P_1 QT} \sim 1 - e^{-P_2 QT} \geqq \frac{1}{2}$$

Die Werte der Nenner liegen somit innerhalb der Grenzen $(C_d + C_1)^2$ und $(C_d + \frac{1}{2} C_1)^2$. In erster Näherung können wir demnach die beiden Nenner einander gleichsetzen, wodurch Gleichung (27) in die von Frey-Wyßling gefundene Gleichung (21) übergeht. Diese stellt also tatsächlich eine brauchbare Näherungsformel dar. Die Wasser-

permeationskonstante ist, wenn wir von den rasch permeierenden Alkoholen absehen, stets beträchtlich größer als die Stoffpermeationskonstante, so daß P_2QT weit rechts vom Kurvenschnittpunkt der Abbildung 13 zu liegen kommt. Da P_1QT stets links dieses Schnittpunktes liegt, folgt daraus, daß Formel (21) um so bessere Werte liefert, je langsamer das verwendete Plasmolytikum permeiert. Die erreichbare Genauigkeit ist allerdings begrenzt durch die Genauigkeit, mit der wir die Plasmolysezeit T messen können. Diese ist, da der Übergang der Plasmolyse in die Deplasmolyse keinen scharfen Umkehrpunkt darstellt, nicht sehr groß. Um größeren Ansprüchen zu genügen, wird die Berechnung der Wasserpermeationskonstante besser nach Formel (26) vorgenommen, wozu, bei bekanntem P_1, eine einzige Volummessung während des Plasmolyseeintritts zur beliebigen, exakt meßbaren Zeit t notwendig ist. Gleichung (26) hat zudem den Vorteil, P_2 ohne graphische Hilfe bestimmen zu können.

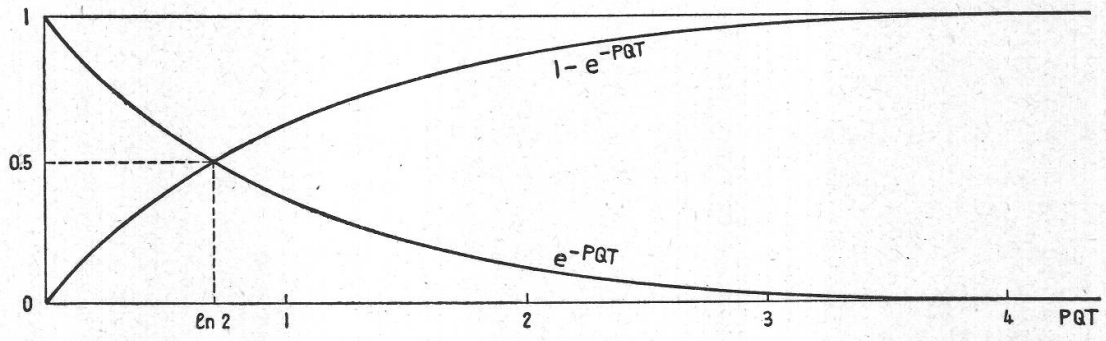


Abbildung 13
Graphische Darstellung der Funktionen e^{-PQT} und $1 - e^{-PQT}$

Wir kommen nun zur experimentellen Prüfung des mathematischen Ausdrucks (26) für die Protoplastenvolumkurve.

Versuch 7

Zygnema (460 114) in 0,6molarer Glykollösung (Totalverfahren). 13° C. Fundort: Seichtes, korrigiertes Bachbett im Schachen in Aarau.

Aus zahlreichen Messungen wurden drei ausgewählt, deren *Zygnemen* gleiche Oberflächenentwicklung und nahezu gleiche Permeabilität aufwiesen. Der osmotische Wert der Zellen wurde aus Zuckerversuchen mittels der Beziehung $C_d = C_D \cdot G$ bestimmt; eine Plasmakorrektur erübrigt sich demnach für die graphische Darstellung. Grenzplasmolyse tritt bei $t = 15$ Sekunden ein, dies ist der Nullpunkt für die Plasmolysekurve $g_{Pl.}$. Die Stoffpermeationskurve $g_{Depl.}$ beginnt hingegen schon bei $t = 0$.

In Tabelle 9 sind die Protoplastenlängen in Skalenteilen (1 Skt. = 2,05 μ) und die exp. Plasmolysegrade aufgeführt.

Tabelle 9

1 37,5/11,4			2 35,5/11,4			3 36,0/11,4		
t	l	g	t	l	g	t	l	g
30	33,0	0,779	35	29,5	0,724	50	28,0	0,672
45	29,8	0,694	50	28,0	0,682	1.05	27,7	0,664
1.05	29,3	0,680	1.10	27,9	0,679	1.20	27,8	0,666
1.25	29,0	0,672	1.20	28,0	0,682	1.30	28,0	0,672
1.45	29,5	0,685	1.30	28,3	0,691	1.37	28,4	0,684
2.20	32,2	0,757	1.40	29,0	0,710	2	29,9	0,725
3	34,0	0,805	1.55	29,9	0,735	2.10	30,3	0,736
3.30	35,2	0,838	2.20	30,9	0,764	2.30	31,5	0,770
4	36,5	0,872	2.30	31,2	0,773	3	33,0	0,810
4.25	37,2	0,891	3	33,1	0,825	3.20	34,0	0,839
4.50	37,5	0,900	3.20	33,9	0,847	3.40	34,7	0,858
			3.35	34,0	0,850	3.55	35,4	0,878

Setzen wir den Wert $g = 0{,}810$ bei 3 Minuten der *Zygnema* 3 in die Gleichung (24) ein, so erhalten wir für die Stoffpermeationskonstante den Wert $P_1 = 0{,}017$ cmh^{-1} ($Q = 1700$ cm^{-1}); mittels dieses Wertes und des Punktes $g = 0{,}724$ bei 35 Sek. (= 20 Sek. effektive Plasmolysezeit) der *Zygnema 2* aus Formel (26) die Wasserpermeationskonstante $P_2 = 0{,}080$ cmh^{-1}.

Die Konzentrationen sind: $C_1 = 0{,}3$ Mol/L Glykol, $C_d = 0{,}3$ Mol/L und $C_D = 0{,}6$ Mol/L. Mit den hier gegebenen Daten können wir den Kurvenverlauf berechnen. Wir gehen dabei so vor, daß wir die $g_{Pl.}$- und

Tabelle 10

t	g_P	t	g_D
0	1	0	0,500
10	0,760	0.30	0,560
20	0,654	1	0,617
30	0,596	1.30	0,673
40	0,563	2	0,725
50	0,542	2.30	0,770
1	0,528	3	0,810
1.10	0,519	3.30	0,845
1.20	0,512	4	0,874
1.30	0,508	5	0,918
1.40	0,506	7	0,965
2	0,502	9	0,988

$g_{Depl.}$-Kurven nach Formel (11) und (22) einzeln berechnen und graphisch addieren. In Tabelle 10 sind die so berechneten Plasmolysegrade aufgeführt und in Abbildung 14 die theoretische Volumkurve mit den experimentellen Werten.

Versuch 8

Zygnema (460 305) in kombinierter Lösung von 0,5 Mol/L Traubenzucker + 0,2 Mol/L Glykol (Partialverfahren). Zellgröße 35,0/9,9 Skalenteile (1 Skt. = 2,47 μ). Temperatur 20,5° C. Fundort: Derselbe wie *Zygnema* des Versuchs 1.

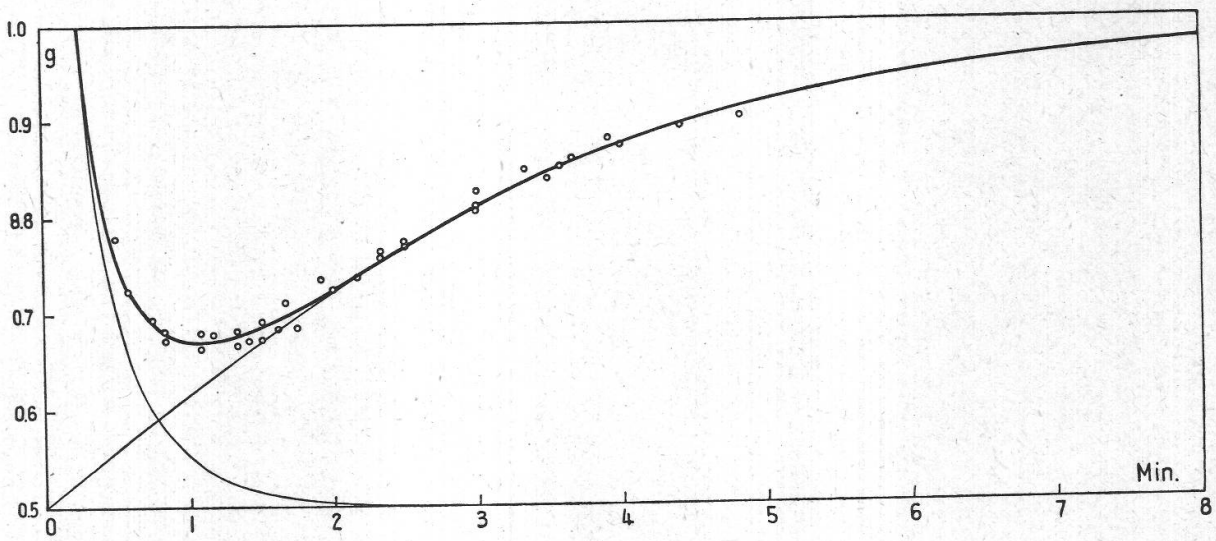


Abbildung 14
Plasmolyse und Deplasmolyse einer *Zygnema* in 0,6molarer Glykollösung

Beim Partialverfahren müssen wir für eine genaue Kurvendarstellung die schon im Versuch 3 für die Plasmolysekurven festgestellte Anfangsverzögerung, die durch den Ausgleich der Vorraumkonzentration bedingt ist, in Betracht ziehen. Diese ist nicht direkt meßbar, sie kann aber aus dem Anfangsteil der Kurve annähernd bestimmt werden. Für unseren Versuch beträgt sie 8 Sekunden, und dieser Wert wurde in Abbildung 15 von den Zeiten der Tabelle 11 in Abzug gebracht. Die Plasmakorrektur wurde nicht besonders bestimmt, wir bringen sie mit 8 % in Abzug. In Tabelle 11 sind die Protoplastenlängen und die mit dieser Plasmakorrektur versehenen Plasmolysegrade aufgeführt. Die zur Konstantenberechnung notwendigen Daten sind $C_d = 0{,}5$ Mol/L, $C_D = 0{,}7$ Mol/L, $C_1 = 0{,}2$ Mol/L, $Q = 1000$ cm^{-1}. Aus $G = 0{,}715$ bei $t = 0$ und $g = 0{,}870$ bei $t = 3$ Min. (effektiv 2 Min. 52 Sek.) berechnen wir $P_1 = 0{,}020$ cmh^{-1} und aus $g = 0{,}795$ bei $t = 50$ Sek. (effektiv 42 Sek.) die Wasserpermeationskonstante $P_2 = 0{,}154$ cmh^{-1}. Damit können wir die Kurven berechnen (Tabelle 12, Abbildung 15).

Tabelle 11

t	l	g
0	25,0	1
15	23,5	0,925
20	22,5	0,875
35	21,4	0,820
50	20,9	0,795
55	20,8	0,790
1.10	20,9	0,795
1.25	21,0	0,800
1.35	21,1	0,805
1.45	21,2	0,810
2	21,5	0,825
2.15	21,8	0,840
2.30	22,0	0,850
2.40	22,1	0,855
3	22,4	0,870
3.20	22,7	0,885
3.35	22,9	0,895
4.30	23,4	0,920
5.30	23,7	0,935
6	24,0	0,950
7	24,2	0,960
9	24,4	0,970
11.30	24,5	0,975
14	24,8	990

Tabelle 12

t	$g_{Pl.}$	t	$g_{Depl.}$
0	1	0	0,715
10	0,880	1	0,778
20	0,814	2	0,830
30	0,778	3	0,873
40	0,755	4	0,905
50	0,740	5	0,930
1	0,732	6	0,950
1.10	0,725	7	0,964
1.20	0,722	8	0,975
1.30	0,719	9	0,981

Versuch 9

Zygnema (460 301) in kombinierter Lösung von 0,5 Mol/L Traubenzucker + 0,3 Mol/L Glykol (Partialverfahren). Zellgröße: 23,5/11 Skalenteile (1 Skt. = 2,47 μ). Temperatur 15° C. Fundort : wie Versuch 8.

Wir rechnen hier wieder mit einer Anfangsverzögerung von 8 Sekunden und einer Plasmakorrektur von 8 %. Die Daten sind: $C_d = 0{,}5$

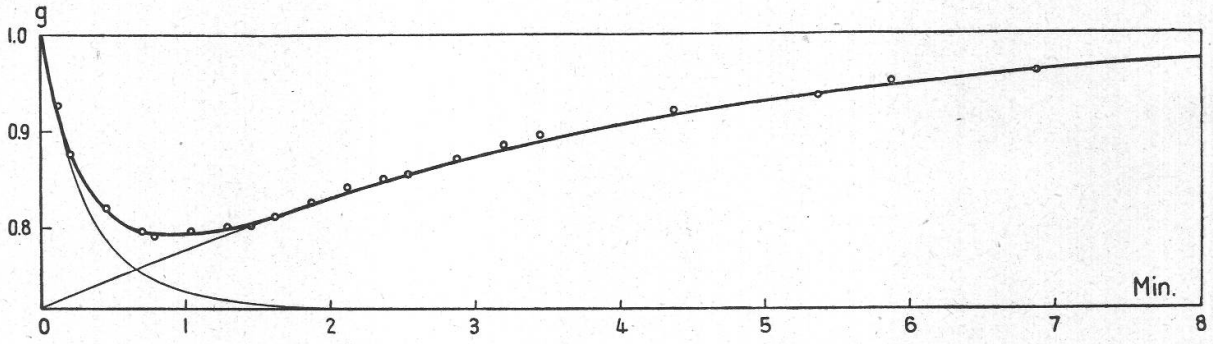


Abbildung 15
Plasmolyse und Deplasmolyse einer *Zygnema* in kombinierter Lösung von 0,5 Mol/L Traubenzucker + 0,2 Mol/L Glykol (Partialverfahren)

Mol/L, $C_D = 0{,}8$ Mol/L und $C_1 = 0{,}3$ Mol/L; $Q = 1470$ cm^{-1}. P_1 berechnet sich mittels Formel (24) aus dem Punkt $g = 0{,}876$ bei 3,5 Minuten (effektiv 3 Min. 22 Sek. zu $P_1 = 0{,}0178$ cmh^{-1} und P_2 mittels Formel

Tabelle 13.

t	l	g
0	21,2	1
36	17,3	0,758
42	17,0	0,740
48	16,9	0,733
54	16,9	0,733
1	16,9	0,733
1.12	17,0	0,740
1.24	17,2	0,751
1.30	17,3	0,758
1.54	17,8	0,790
2.06	18,0	0,801
2.12	18,0	0,801
2.30	18,2	0,814
3	18,7	0,845
3.30	19,2	0,876
4	19,6	0,900
4.45	20,1	0,932
5.30	20,5	0,957
6.30	20,7	0,969
7.30	21,0	0,988
10.30	21,0	0,988

(26) aus Punkt $g = 0{,}740$ bei $t = 42$ Sekunden (effektiv 34 Sek.) zu $P_2 = 0{,}105$ cmh^{-1}. In Tabelle 13 sind die experimentellen und in Tabelle 14 die theoretischen Größen aufgeführt und in Abbildung 16 deren graphische Darstellung.

Tabelle 14

t	$g_{Pl.}$	t	$g_{Depl.}$
0	1	0	0,625
10	0,829	1	0,722
20	0,744	2	0,880
30	0,698	3	0,862
40	0,670	4	0,905
50	0,654	5	0,939
1	0,644	6	0,959
1.20	0,632	8	0,983

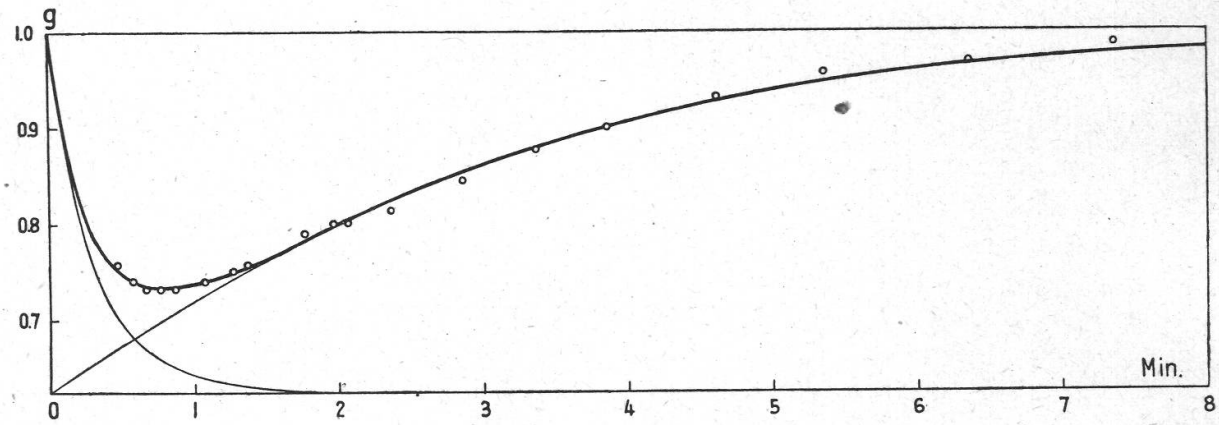


Abbildung 16
Plasmolyse und Deplasmolyse einer *Zygnema* in kombinierter Lösung von 0,5 Mol/L Traubenzucker + 0,3 Mol/L Glykol (Partialverfahren)

Die vorstehenden Versuche zeigen eine gute experimentelle Bestätigung der Gleichung (26) und damit deren Brauchbarkeit zur Berechnung der Wasserpermeationskonstante.

Zum Vergleich wollen wir für die vorstehenden Versuche die Berechnung dieser Konstante mittels der Näherungsformel (21) durchführen. Die Berechnung geschieht nach dem von Frey-Wyßling (1946) gegebenen graphischen Verfahren. Die so berechneten Resultate sind:

	nach Formel (21)	nach Formel (26)
Versuch 7	0,050 cmh^{-1}	0,080 cmh^{-1}
Versuch 8	0,176 cmh^{-1}	0,154 cmh^{-1}
Versuch 9	0,116 cmh^{-1}	0,105 cmh^{-1}

Unbefriedigend ist die geringe Übereinstimmung der Resultate des Versuchs 7. Die Ergebnisse zeigen aber, daß die von Frey-Wyßling gegebene Näherungsformel, der Größenordnung nach, richtige Resultate gibt und für Versuche orientierenden Charakters brauchbar ist.

D. Schlußbetrachtungen

Wir haben im vorstehenden drei Methoden zur Messung der Wasserpermeationskonstante kennengelernt. Es ist offensichtlich, daß bezüglich der allgemeinen Anwendbarkeit die Methode der Deplasmolyse den Vorrang genießt, denn sie bietet gegenüber den Methoden der Plasmolyse und gegensinnigen Permeation den großen experimentellen Vorteil, daß die Form des Protoplasten während der Ausdehnung ideale geometrische Form besitzt. Es können so die zahlreichen Objekte, die beim Plasmolyseeintritt unregelmäßige Plasmolyseform aufweisen, zu Deplasmolyseversuchen herangezogen werden, der Kreis der für Wasserpermeabilitätsmessungen geeigneten Pflanzen erweitert sich dadurch beträchtlich. Indessen ergibt die Deplasmolyse viel häufiger Abweichungen von einem normalen regelmäßigen Kurvenverlauf, indem häufig Permeabilitätserhöhung auftritt. Wo es die Plasmolyseform zuläßt, ist deshalb der in der Anwendung einfacheren und weniger schädigenden Plasmolyse-Methode der Vorzug zu geben. Verwenden wir so, je nach Eignung des Objektes, die eine oder andere Methode, so stellt sich uns die Frage, ob die mittels Deplasmolyse ermittelte Permeationskonstante denselben Wert besitzt wie die mittels Plasmolyse an derselben Zelle ermittelte Konstante. Für die *Zygnema* des Versuchs 6 ist dies, wie wir gesehen haben, auch tatsächlich der Fall. Demgegenüber fand aber Höfler (1930), daß bei *Majanthemum* die Deplasmolyse rascher verlaufe, die sogenannte Rückgangskonstante also größer sei als die Eintrittskonstante. Die wenigen Versuche (Nrn. 21—30) von Höfler, auf die sich diese Aussage stützt, gestatten indessen noch kein endgültiges Urteil. Von den Versuchen 21, 27 und 28, bei denen sowohl die Plasmolyse- als auch die Deplasmolysekurve derselben Zelle gemessen wurde, ist einzig Versuch 28 verwertbar, die übrigen zeigen einen abnormalen Deplasmolyseverlauf, was deutlich zum Ausdruck kommt, wenn die Deplasmolysekurve nach Formel (10) als Gerade dargestellt wird. Bei diesem einzigen direkt vergleichbaren Versuch ist tatsächlich die Permeabilität bei der Deplasmolyse mit $P_2 = 0{,}020$ cmh^{-1} fast dreimal so groß wie bei der Plasmolyse mit einem $P_2 = 0{,}0077$ cmh^{-1}. Die Deplasmolysen der Versuche 25, 26 und 30 (1 und 2) lassen sich sehr schön als Gerade darstellen, leider aber kennen wir für diese Zellen die Plasmolysekurven nicht, so daß ein direkter Vergleich mit diesen nicht möglich ist. Die P_2 dieser Versuche sind: 0,020, 0,016, 0,019 und 0,018 cmh^{-1}. Nun gibt es zwar Plasmolysen, die nahezu so rasch

verlaufen, zum Beispiel Versuch 15 (1. Zelle) mit $P_2 = 0{,}014$ cmh^{-1}, aber im gesamten gesehen, scheint es doch, daß die mittels Deplasmolyse gewonnenen Permeationskonstanten höher sind als die mittels Plasmolyse gewonnenen, nämlich 0,016—0,020 cmh^{-1} gegenüber 0,005—0,014 cmh^{-1} bei der Plasmolyse. Zu einem ähnlichen Befund kommt de Haan (1933) bei seinen Deplasmolyseversuchen an *Allium Cepa*. Demgegenüber finden McCutcheon und Lucké (1926, 1927), an Seeigel-Eiern keinen Unterschied zwischen der Endosmose und Exosmose des Wassers, sofern die Messungen bei gleichen Konzentrationen erfolgen. Das ganze Problem Plasmolyse—Deplasmolyse scheint noch nicht gelöst, indessen ist hier nicht der Ort, näher darauf einzugehen.

Ein ähnliches Problem stellt sich bei der Bestimmung der Wasserpermeationskonstante mittels der Methode der gegensinnigen Permeation. Die aus der Kurve der gegensinnigen Permeation bestimmte Wasserpermeationskonstante ist größer als die aus der Plasmolysekurve ermittelte desselben Objektes. So ergeben sich aus den Plasmolysekurven der *Zygnemen* unserer Versuche Werte von $P_2 = 0{,}011$—$0{,}043$ cmh^{-1}, aus den Versuchen der gegensinnigen Permeation aber $P_2 =$ 0,080—0,154 cmh^{-1}. Ähnlich bei den *Spirogyra*versuchen. Zuckerplasmolysen ergeben ziemlich einheitliche Werte von $P_2 = 0{,}010$ cmh^{-1}, Glykolversuche aber $P_2 = 0{,}027$—$0{,}030$ cmh^{-1}. Diese Permeabilitätserhöhung ist nicht anders zu denken, als daß sie durch Hydratationsänderungen des Plasmas, die durch das Glykol bewirkt werden, verursacht wird. Diese Hydratationsänderungen werden bei der Wahl eines andern Plasmolytikums nicht dieselben sein, so daß die Größe der Wasserpermeationskonstante von der Art und wohl auch von der Konzentration des verwendeten Plasmolytikums abhängig ist.

Messen wir aber die Permeabilitätskonstanten verschiedener Objekte mit derselben Methode und demselben Plasmolytikum, so sind die erhaltenen Werte sehr wohl miteinander vergleichbar. Es ist nun interessant zu sehen, daß auch die Wasserpermeationskonstanten ähnlich den Stoffpermeationskonstanten bei verschiedenen Objekten Werte annehmen können, die sich im Verhältnis von 1 : 400 unterscheiden. In Tabelle 15 ist eine vergleichende Übersicht von P_2-Werten aufgeführt. Diese besitzt nur orientierenden Charakter, ohne Anspruch auf Vollständigkeit und Genauigkeit zu erheben. Die Konstanten sind zum Teil Eigenmessungen, zum größten Teil aber Neuauswertungen von Messungen aus der Literatur, namentlich der Eintrittskurven von Huber und Höfler (1930), mittels der in dieser Arbeit abgeleiteten Formeln. In der Tabelle sind angegeben: Objekt, Autor (mit Seitenzahl), Methode (Pl. = Plasmolyse, Depl. = Deplasmolyse, n. pl. = nicht plasmometrisch), Art des Plasmolytikums (Gluk. = Glukose, Sacch. = Saccharose, See-W. = Seewasser), Temperatur in °C, P_2-Werte in cmh^{-1}.

Tabelle 15

Objekt	Autor	Meth.	Plasm.	T	P_2
Spirogyra sp.	Bochsler (diese Arbeit), S. 89	Pl.	Gluk.	14	0,009
Spirogyra sp.	ibid., S. 93	Pl.	Gluk.	20	0,011
Spirogyra nitida	Huber und Höfler (1930), S. 374	Pl.	KNO_3	—	0,033—0,039
Spirogyra sp.	ibid., S. 381	Pl.	KCl	11	0,011—0,018
Zygnema sp.	Bochsler (diese Arbeit), S. 87	Pl.	Gluk.	18	0,014
Zygnema sp.	ibid., S. 91	Pl.	Gluk.	20	0,026—0,043
Zygnema «longic.»	Huber und Höfler (1930), S. 383	Pl.	$CaCl_2$	19	0,019—0,023
Zygnema «velox»	ibid., S. 384	Pl.	KCl	11	0,052—0,123
Zygnema sp.	ibid., S. 387	Pl.	KCl	18	0,026—0,033
Mougeotia, große	ibid., S. 390	Pl.	KCl	9	0,025
Mougeotia, kleine	ibid., S. 391	Pl.	KCl	11	0,036
Ectocarpus	ibid., S. 398	Pl.	See-W.	—	0,013—0,021
Arthrocladia	ibid., S. 400	Pl.	See-W.	24	0,320—0,800
Chilosyphus	ibid., S. 407	Pl.	KCl	—	0,024—0,055
Salvinia	ibid., S. 412	Pl.	KNO_3	—	0,004
Vallisneria Epid.	ibid., S. 421	Pl.	KNO_3	—	0,016
Vallisneria Mesoph.	Huber (1933), S. 54	Pl.	NaCl	—	0,002
Majanthemum	Höfler (1930), S. 330	Pl.	Sacch.	—	0,005—0,014
Majanthemum	ibid., S. 339	Depl.	Sacch.	—	0,016—0,020
Allium Cepa	de Haan (1933), S. 281	Depl.	Sacch.	20	0,010
Stachys	Huber und Höfler (1930), S. 472	Depl.	Gluk.	17	0,028
Hookeria	ibid., S. 478	Depl.	NaCl	17	0,80
Tolypellopsis	Palva (1939), S. 267	n. pl.	—	—	0,43
Tolypellopsis	Wartiovaara (1944), S. 18	n. pl.	HDO	—	1,04 (HDO)

Schließlich wollen wir noch die Permeabilität des Wassers mit derjenigen gelöster Stoffe vergleichen. Aus den Versuchen 7—9 erhielten wir für *Zygnemen* die Wasser- und Glykolpermeationskonstanten mit den Werten:

Versuch 7	Versuch 8	Versuch 9
$P_1 = 0{,}017\ cmh^{-1}$	$P_1 = 0{,}020\ cmh^{-1}$	$P_1 = 0{,}018\ cmh^{-1}$
$P_2 = 0{,}080\ cmh^{-1}$	$P_2 = 0{,}154\ cmh^{-1}$	$P_2 = 0{,}105\ cmh^{-1}$

Ein Vergleich mit andern Stoffen ergibt sich aus den Permeabilitätsreihen von Wartiovaara (1944) für *Tolypellopsis*, von Höfler (1934) für *Majanthemum* und von Hofmeister (1935) für *Zyg-*

nema (Tabelle 16). Bei der Reihe für *Tolypellopsis* von Wartiovaara ist P_2 für schweres Wasser eingesetzt, bei den übrigen Reihen ist für P_2 der in Tabelle 15 aufgeführte Wert eingesetzt.

Tabelle 16

	Tolypellopsis	*Majanthemum*	*Zygnema*
Wasser	1,04	0,005—0,014	0,014—0,040
Methylalkohol	0,85	—	—
Glykol	0,010	—	0,0075
Harnstoff	0,00084	0,00015	0,00016
Glyzerin	0,000081	0,000055	0,00021

E. Zusammenfassung

1. Die Konstanz des Diffusionskoeffizienten der Fickschen Diffusionsgleichung kann nicht nur dahin interpretiert werden, daß die Teilchen der diffundierenden Substanz so weit voneinander entfernt sein müssen, daß sie auf ihre Bewegung keinen gegenseitigen Einfluß ausüben, sondern auch in dem Sinne, daß eine solche Beeinflussung zwar vorhanden sein kann, aber auf beiden Seiten der Membran von derselben Art und Größenordnung. Dies trifft zu, wenn die Konzentrationen, wie es bei der Wasserpermeation der Fall ist, beidseits der Membran nicht wesentlich voneinander verschieden sind. Der Gedanke, die Wasserpermeation ebenfalls dem Fickschen Gesetz zu unterstellen, erhält dadurch Berechtigung.
2. Es wurde gezeigt, daß die Wasserpermeation proportional der Differenz zwischen der jeweiligen Wasserkonzentration und der Gleichgewichtskonzentration des Wassers im Zellsaft verläuft.
3. Auf dieser Grundlage wurde der Permeationsvorgang der Plasmolyse, Deplasmolyse und gegensinnigen Permeation mathematisch erfaßt und Formeln für die Berechnung der Wasserpermeationskonstanten aus diesen drei Kurven entwickelt.
4. Die theoretischen Folgerungen und damit die Anwendbarkeit des Fickschen Diffusionsgesetzes auf die Wasserpermeation konnten experimentell bestätigt werden.
5. Die gewonnenen Wasserpermeationskonstanten haben dieselbe Dimension cmh^{-1} und sind gleich definiert wie die Stoffpermeationskonstanten. Sie können mit diesen quantitativ verglichen werden.
6. Vergleichende Betrachtungen zeigen, daß die Wasserpermeationskonstanten verschiedener Objekte sich bis zu 1 : 400 unterscheiden können.

Summary

Fick's law of diffusion has been applied to the permeation of water in a similar way as it is used as for the permeation of dissolved substances. Thus the process of plasmolysis, deplasmolysis and the counter-permeation of dissolved substances into the cell and water out of the cell has been mathematically treated and the resulting formulae experimentally tested.

Literaturverzeichnis

Bärlund, H., 1929: Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von Rhoeo discolor. Acta bot. fennica, **5**, 7.

Boltzmann, L., 1894: Zur Integration der Diffusionsgleichung bei variablen Diffusionscoefficienten. Wiedemanns Ann., **53**, 959.

Brooks, S. C., 1935: The permeability of erythrocytes to deuterium oxide (heavy water). Journ. Cell. Comp. Physiol., **7**, 163.

— 1937: Osmotic effects of deuterium oxide (heavy water) on living cells. Science, **86**, 497.

Collander, R. und Bärlund, H., 1933: Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla. II. Die Permeabilität für Nichtelektrolyte. Acta Bot. Fenn., **11**, 1.

Davson, H. and Danielli, J. F., 1943: The permeability of naturel membranes. University Press Cambridge.

Einstein, A., 1905: Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierenden Teilchen. Ann. Physik (4), **17**, 549.

Fick, A., 1855: Über Diffusion. Poggendorffs Ann., **94**, 59.

Frey-Wyßling, A., 1945: Die Turgorschwankung bei Permeabilitätsversuchen. Gedenkschr. f. G. Senn, Naturf. Ges. Basel, **56**, 2. Teil, 330.

— 1946: Zur Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Experientia, **II/4**, 132.

— und v. Rechenberg-Ernst, 1943: Über die Wasserpermeabilität der Epithemzellen von Hydathoden. Flora, N. F. **37**, 193.

— und Bochsler, A., 1947: Zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Experientia, **III/1**, 30.

Haan, Iz. de, 1933: Protoplasmaquellung und Wasserpermeabilität. Rec. Trav. Bot. Néerl., **30**, 234.

Höfler, K., 1917: Die plasmolytisch-volumetrische Methode und ihre Anwendbarkeit zur Messung des osmotischen Wertes lebender Pflanzenzellen. Ber. deutsch. bot. Ges., **35**, 706.

— 1918: Eine plasmolytisch-volumetrische Methode zur Bestimmung des osmotischen Wertes von Pflanzenzellen. Denkschr. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., **95**, 99.

— 1930: Eintritts- und Rückgangsgeschwindigkeit der Plasmolyse. Jb. f. wiss. Bot., **73**, 300.

— 1934: Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von Majanthemum bifolium. (Zur Kenntnis spezifischer Permeabilitätsreihen, I.) Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., **143**, 213.

Hofmeister, L., 1935: Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica, **113**, 1.

— 1937: Die Wirkung von Äthylenglykol auf die Plastiden von Spirogyra. Protoplasma, **28**, 48.

Huber, B., 1933: Beiträge zur Kenntnis der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. I. Permeabilitätsunterschiede zwischen Epidermis und Mesophyll im Vallisneria-Blatt. II. Die «Vorraum»-Konzentration von Spirogyra majuscula. Ber. Deutsch. Bot. Ges., **51/1**, 53.

— und Höfler, K., 1930: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jb. f. wiss. Bot., **73**, 351.

Jacobs, M. H., 1933: The simultaneous measurement of cell permeability to water and to dissolved substances. Journ. Cell. Comp. Physiol., **2**, 427.

— 1933: The relation between cell volume and penetration of a solute from an isosmotic solution. Journ. Cell. Comp. Physiol., **3**, 29.

— 1935: Diffusion Processes. Ergeb. Biol., **12**, 1.

— and Stewart, 1932: A simple method for the quantitative measurement of cell permeability. Journ. Cell. Comp. Physiol., **1**, 71.

Lucké and McCutcheon 1932: The living cell as an osmotic system and its permeability to water. Physiol. Rev., **12**, 68.

— and Harvey, 1935: The permeability of living cells to heavy water (deuterium oxide). J. Cell. Comp. Physiol., **1**, 473.

McCutcheon and Lucké, 1926: The kinetics of osmotic swelling in living cells. J. Gen. Physiol., **9**, 697.

— and Lucké, 1927: The kinetics of exosmosis of water from living cells. J. Gen. Physiol., **10**, 659.

— and Hartline, 1931: The osmotic properties of living cells (eggs of Arbacia punctulata). J. Gen. Physiol., **14**, 393.

Nernst, W., 1888: Zur Kinetik der in Lösung befindlichen Körper. Zeitschr. physik. Chem., **2**, 613.

Netter, H., 1927: Über den nichtlösenden Raum (sog. disperse Phase) und seine Bedeutung für zellphysiologische Probleme. Protoplasma, **2**, 554.

Palva, P., 1939: Die Wasserpermeabilität der Zellen von Tolypellopsis stelligera. Protoplasma, **32**, 265.

Parpart, A. K., 1935: The permeability of the mammalian erythrocyte to deuterium oxide (heavy water). J. Cell. Comp. Physiol., **7**, 153.

Resühr, B., 1935: Zur Theorie der Plasmolyse- und Deplasmolysedauer (Entquellungs- und Quellungsdauer) lebender Protoplasten. Protoplasma, **23**, 336.

Ruhland und Hoffmann, 1925: Die Permeabilität von Beggiatoa mirabilis. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta, **1**, 1.

Runnström, J., 1911: Untersuchungen über die Permeabilität des Seeigel-Eies für Farbstoffe. Arkiv för Zoologi, **7**, Nr. 13, 1.

Walter, H., 1923: Protoplasma- und Membranquellung bei Plasmolyse. Untersuchungen an Bangia fusco-purpurea und andern Algen. Jahrb. f. wiss. Bot., **62**, 145.

Wartivaara, V., 1944: The permeability of tolypellopsis cells for heavy water and methyl alcohol. Acta Bot. Fenn., **34**, 1.

Zuber, R., 1932: Untersuchungen über Diffusion in Flüssigkeiten. II. Über einen Mikrodiffusionsapparat für ungefärbte Flüssigkeiten. III. Diffusionsmessungen an elektrisch neutralen Flüssigkeitsgemischen und Lösungen. Zeitschr. Physik., **79**, 280.