© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

um so interessanter, als bei ihm auf den ersten Blick die Wellenlänge des Lichtes der allein auschlaggebende Faktor zu sein scheint. Daß letztere für die Färbung der Cyanophyceen ihre Bedeutung hat, und zwar eine größere als die Intensität, soll natürlich absolut nicht geleugnet werden. Meine eigenen Versuche zeigten mir, daß auch im hellsten mir zur Verfügung stehenden roten Licht immer nur die spangrüne, nie die purpurne Farbe zustande kommt.

Wenn in der Natur manche Cyanophyceen bald grün, bald olivgrün oder bräunlich angetroffen werden, so wird dafür neben Alterserscheinungen[1]) sicher die Beleuchtungsintensität am Standort ausschlaggebend sein, und die unter Umständen an den einzelnen Fäden ein und desselben Lagers auftretenden Farbunterschiede werden besonders in unbeweglichen Zuständen von der gegenseitigen Beschattung der Fäden durcheinander abhängen. Daneben werden natürlich auch die oberen Fäden als Farbfilter für die unteren wirken.

Würzburg, Botanisches Institut, im September 1921.

5. Friedrich Boas: Die Wirkung der Saponinsubstanzen auf die Hefezelle.

(Ein Beitrag zur Lipoidtheorie.)

(Aus dem botanischen Institut der landw. Hochschule Weihenstephan.)

(Eingegangen am 6. Oktober 1921. Vorgetragen in der Novembersitzung.)

Die Voraussetzungen für die folgenden Versuche sind:

1. Saponinsubstanzen verändern den kolloidalen Zustand der aus einer Lecithin-Cholesterinmischung bestehenden Lipoidkomponente der Plasmaoberfläche, wobei Cholesterin ausgeflockt wird, ohne daß eine Entmischung der Lipoide eintritt.

2. Eine Änderung des Quellungszustandes der Lipoide, die meist im Sinne einer ± großen Flockung verläuft, führt je nach der Wirksamkeit der Saponine zu einer ± starken Erhöhung der Permeabilität. Diese starke Erhöhung der Permeabilität kann bei den hochaktiven Saponinsubstanzen, die wie Digitonin[2])

1) BORESCH, Biochem. Zeitschr. 1921. 119, S. 204.

2) Mit Hilfe von Digitonin wird bekanntlich Cholesterin nach der Methode WINDAUS bestimmt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

auf die Cholesterine besonders intensiv wirken, zu einer schweren Schädigung der Zelle führen. Es werden demnach die mäßig wirksamen Saponinsubstanzen, wenn wir mit Hefe als Versuchsobjekt arbeiten, die Gärung stark anregen, die hochwirksamen Saponinsubstanzen dagegen, welche die besonders wichtige Cholesterinkomponente in erster Linie beeinflussen (Digitonin), werden die Gärung stark schädigen.

3. Bei der Wirkung der hochaktiven Saponinsubstanzen wird vermutlich neben der besonders betonten Cholesterinbeziehung auch die lockere Bindung von Lipoid: Eiweiß zu momentan beschädigt, so daß die beobachtete Gärungshemmung eintritt. Für das Vorhandensein einer Lipoid-Eiweißbindung hat BECHHOLD (1) bei roten Blutkörperchen ultramikroskopische Beweise erbracht.

4. Saponin in Verbindung mit Salzen bedingt eine Entmischung der Lecithin-Cholesterinkomponente, so daß die Salze ungehindert in die Zelle eindringen können. Dies führt zu einer irreversiblen Schädigung der Zelle, die bei Gärversuchen eine starke Hemmung der Gärleistung bedingt. Mikroskopisch läßt sich die Salz-Saponinwirkung meist sehr bequem an der Zerstörung der Struktur der Zelle erkennen.

Diese Voraussetzungen, die inzwischen durch die Arbeiten der Schule BECHHOLDs (1) und besonders HATTORIs (2) eine präzisere Fassung erhalten konnten, wurden in einer umfangreichen Arbeit von mir (3) zu beweisen versucht. An einigen neueren Versuchen sollen weitere Beiträge zur Mitwirkung der Lipoide beim Stoffaustausch der Zelle beigebracht werden.

In dieser vorliegenden Weiterführung der obigen Arbeit wurden außer dem Saponin der levantinischen Seifenwurzel[1]) noch folgende Saponinsubstanzen untersucht:

1. Quillayasaponin (reinst, GEHE & CO., Dresden),
2. Sapotoxin (MERCK, Darmstadt),
3. Smilacin (Sarsaparillsaponin, SCHUCHARDT, Görlitz),
4. Digitonin (MERCK, Darmstadt),
5. Guajaksaponin (nicht völlig rein, GEHE, Dresden).

1) Die Angabe auf Seite 174 meiner Arbeit, MERCKsches Saponin pur. albiss. bestehe in der Hauptsache aus Quillayasapotoin, ist irrig. Das normale MERCKsche Saponin ist aus der levantinischen Seifenwurzel hergestellt. Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, daß ich gelegentlich völlig inaktives MERCKsches Saponin in Händen hatte, was sich mit besonderer Deutlichkeit aus der Wirkungslosigkeit der Kombination Saponin-Neutralsalz ergibt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Von diesen Saponinsubstanzen sind Digitonin und Smilacin hochwirksam, Guajaksaponin fast unwirksam, wenn man die Einwirkung der verwendeten Saponine auf rote Blutkörperchen als Maß der Wirksamkeit nach KOBERT (4) annimmt, der (l. c. S. 18) insgesamt 45 Saponinsubstanzen vergleichend untersucht hat. Ein Auszug aus der Tabelle KOBERTs soll die Wirkung auf rote Blutkörperchen kurz erläutern. Es werden rote Blutkörperchen haemolysiert:

Nr.	Bezeichnung der Substanz	Wirkungsgrenze
1	Cyklamin (Alpenveilchen)	1 : 100,000
2	Digitonin (Fingerhut)	1 : 80,000
3	Smilacin	1 : 30,000
4	Quillayasäure (Na-Salz)	1 : 10,000
5	Sapotoxin	1 : 10 000
6	Guajaksaponin	fast unwirksam

Eine ganz ähnliche Anordnung nach ihrer Wirkung bei der Gärung können wir auch bei Hefe beobachten, es können also Resultate von Versuchen mit roten Blutkörperchen auf Hefe übertragen werden.

Die Ergebnisse der folgenden Hefeversuche mit verschiedenen Saponinsubstanzen sind:

Wie unter 2 der Arbeitsvoraussetzungen gefordert, hemmen die hochwirksamen Saponinsubstanzen Digitonin, Smilacin und Cyklamin, letzteres von J. LUNDBERG (5) allerdings an Trockenhefe untersucht, die Gärung ± stark, die anderen dagegen fördern in salzarmer oder salzfreier Lösung die Gärung weitgehend, da sie die Permeabilität ohne Schädigung der Zelle erhöhen. Eine Erklärung für diese Befunde liegt in der eindeutigen Beziehung aller Saponinsubstanzen zur Lecithin-Cholesterinnatur der Plasmaoberfläche, indem Saponin den Quellungszustand der Lipoide bis zur völligen Ausflockung verändern kann. Damit ist ein strikter Beweis für die Lipoidnatur und gegen die Eiweißnatur der Plasmaoberfläche erbracht.

Nach diesen Vorbemerkungen werden die folgenden Versuche ohne weiteres klar sein.

Versuch 1. Zu 10 ccm dickbreiiger, zweimal mit Leitungswasser gewaschener, dann mit destilliertem Wasser angerührter Hefe kamen (in 100 ccm ERLENMEYERkölbchen):

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

a) 20 ccm destilliertes Wasser
b) 10 ccm n $NaNO_3$ + 10 ccm aq. dest.
c) 10 ccm n LiCl + 10 ccm aq. dest.
d) 10 ccm 1 %iges Sapotoxin + 10 ccm aq. dest.
e) 10 ccm 1 %iges Sapot. + 10 ccm n $NaNO_3$
f) 10 ccm 2,5 %iges Saponin Merck + 10 ccm H_2O
g) 10 ccm Sapon. Merck + 10 ccm m $NaNO_3$
h) 10 ccm 2,5 %iges Quillayasapon. + 10 ccm H_2O
i) 10 ccm Quillayasapon. + 10 ccm m $NaNO_3$
k) 10 ccm Quillayasapon. + 10 ccm m NaCl
l) 10 ccm Quillayasapon. + 10 ccm m LiCl
m) 10 ccm Quillayasapon. + 10 ccm mol. $MgNO_2$
n) 10 ccm 1 %iges Smilacin + 10 ccm H_2O
o) 10 ccm 1 %iges Smilacin + 10 ccm m $NaNO_3$
p) 10 ccm 2,5 %iges Guajaksaponin + 10 ccm H_2O
q) 10 ccm 2,5 %iges Guajaksaponin + 10 ccm m $NaNO_3$.

Nach Durchmischen werden 20 ccm 15 %ige Rohrzuckerlösung zugesetzt und die Gärung durch Wägung (Fehlergröße + 0,02 g) verfolgt.

Es wurden entwickelt bei Zimmertemperatur (ca. 20° C) g CO_2 nach

	1½	5	6½	22	29	Stunden Zusätze:
a)	0,16	0,65	0,79	1,24	—	Wasser (Kontrollkolben, salzarm)
b)	0,09	0,67	0,86	1,27	—	$NaNO_3$
c)	0,09	0,58	0,80	1,30	—	LiCl
d)	0,19	0,69	0,85	—	—	Sapotoxin
e)	0,01	0,09	0,12	0,53	0,75	Sapot. $NaNO_3$
f)	0,22	0,77	0,93	1,30	—	Sapon. Merck
g)	0,00	0,02	0,07	0,19	0,25	Sapon. Merck $NaNO_3$
h)	0,23	0,79	0,94	—	—	Quillayasap.
i)	0,02	0,07	0,11	0,39	—	Quillayasap. $NaNO_3$
k)	0,05	0,34	0,53	1,16	—	„ NaCl
l)	0,02	0,05	0,08	0,11	—	„ LiCl
m)	0,00	0,00	0,01	—	—	„ $MgNO_3$
n)	0,06	0,33	0,44	0,88	0,97	Smilacin
o)	0,02	0,07	0,26	0,62	0,75	Smilacin $NaNO_3$
p)	0,32	0,88	1,06	—	—	Guajaksap.
q)	0,25	0,86	1,07	—	—	„ $NaNO_3$.

Von den in Versuch 1 verwendeten Saponinsubstanzen fördern voraussetzungsgemäß Sapotoxin, Saponin Merck und Guajaksaponin

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die Gärung in salzarmer Lösung ganz beträchtlich. Offenbar verändern sie den kolloidalen Zustand der Lipoide nur mäßig, die Entquellung bzw. Koagulation der Lecithin-Cholesterinmischung führt zwar zu einer beträchtlichen Erhöhung der Permeabilität und damit zu einem gesteigerten Zuckerumsatz, aber noch zu keiner Schädigung des gesamten Plasmagefüges.

Bei der weiteren Besprechung der Ergebnisse wird von Guajaksaponin abgesehen, da diese Proben (eine Saponinprobe sandte freundlichst Herr Professor E. SIEBURG, Hamburg, durch liebenswürdige Vermittlung des Herrn Prof. TRENDELENBURG) nicht genügend rein waren, um aus ihrem Verhalten Schlüsse ziehen zu können. Denn geringfügige Verunreinigungen oder Zusätze können, wie ich in meiner eingangs erwähnten Arbeit Seite 193 ff. und in dem Versuche mit Rohsaponin (ibidem Versuch 17d Seite 188) angegeben habe, die Saponinwirkung weitgehend ablenken. Müßte nicht mit einer gewissen Unreinheit des Guajaksaponins gerechnet werden, dann würde das Ergebnis mit Guajaksaponin in hervorragendem Maße in die allgemeine KOBERTsche Saponinreihe passen. Dann wäre auch zu erwarten, daß die Kombination Guajaksaponin-Neutralsalz nicht oder kaum schädlich wirkt, da durch die äußerst geringe Guajakwirkung die Lipoide zwar noch im Sinne erhöhter Permeabilität verändert werden, aber nicht mehr in dem Maße, daß die Zugabe von Neutralsalz die Lipoide zur Entmischung bringt und damit zur Schädigung der Zelle führt. Der mehrmals mit gleichem Erfolge durchgeführte Versuch 1 p und q würde dann eine weitgehende Bestätigung der Arbeitsvoraussetzung sein. Salze an sich verändern nach den bekannten HOFMEISTERschen Reihen (lyotropen Reihen FREUNDLICHs) den Quellungszustand der Lipoide (siehe meine Arbeit S. 179 ff.), so daß die Gärung nach lyotropen Salzeinflüssen sich ändert. Ist aber gleichzeitig Saponin vorhanden, so tritt eine Entmischung der Lipoide ein, Salze strömen ungehindert in die Zelle ein, was oft rasch den Tod der Zelle durch Denaturierung des Lipoid- und Eiweißgefüges zur Folge hat. Bei dem ganz schwach wirksamen Guajaksaponin ist theoretisch zu erwarten, daß hier die Salz-Saponinwirkung kaum zu einer Störung führt. Dies ist auch der Fall, wie Versuch 1 p und q zeigt. Doch ist der Versuch, wie schon erwähnt, nicht eindeutig, da das verwendete Saponin nicht völlig rein ist.

Als Resultat des vergleichenden Versuches 1 ergibt sich der beherrschende Einfluß der Lipoide bei Permeabilitätsstudien.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die stark wirkenden Saponine Smilacin und besonders Digitonin sind für die Zelle schädlich, offenbar weil sie zu intensiv den kolloidalen Zustand der Lipoide ändern. Die Wirkung des stark hemmenden Smilacins ist aus der vorstehenden Tabelle klar ersichtlich. Wesentlich stärker wirkt aber, wie der folgende Versuch zeigt, das sehr hochwirksame Digitonin. Es kam eine 0,2 %ige Aufschlemmung von Digitonin zur Anwendung, die durch starkes Erwärmen sich nahezu klar löste.

Versuch 2. Zu 10 ccm Hefe kamen

a) 20 ccm destill. Wasser
b) 10 ccm (0,2 %iges) Digitonin + 10 ccm Wasser
c) 5 ccm (0,2 %iges) Digitonin + 15 ccm Wasser
d) 10 ccm Digitonin + 10 ccm n NaCl
e) 10 ccm n NaCl + 10 ccm Wasser.

Nach Durchmischen wurden 20 ccm 15 %ige Rohrzuckerlösung zugesetzt und die Gärung bei Zimmertemperatur durch Wägung verfolgt

Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1½	4½	6½	10½	Stunden
2 a)	0,06	0,22	0,34	0,53	Salzarme Kontrolle
2 b)	0,05	0,13	0,16	0,25	Digitonin
2 c)	0,08	0,23	0,31	0,47	Digitonin
2 d)	0,01	0,03	0,05	0,09	Digitonin NaCl
2 e)	0,07	0,24	0,47	0,71	NaCl.

Bei einem anderen Versuche wurde eine noch stärkere Hemmung durch gleiche Digitoninmengen erzielt, erst durch Herabsetzen der Digitoninmenge auf 0,004 % wurde die Gärleistung der salzarmen Vergleichsprobe erzielt. Digitonin ist also bedeutend schädlicher als Smilacin.

Aus den Saponinversuchen geht einwandfrei hervor, daß die Lipoide der Zelle beim Stoffaustausch eine bedeutende Rolle spielen. Dieser Beweis darf als einwandfrei gelten, da die Beziehung Lipoid-Saponin eindeutig ist. Die stark oberflächenaktiven Lipoide sind demnach als Regulatoren der Permeabilität in hervorragendem Maße tätig. Der weitgehende Parallelismus zwischen Hefezellen und roten Blutkörperchen sei hier nochmals betont.

Soviel sei aus meinen Saponinversuchen abgeleitet, die inzwischen durch die wertvollen Arbeiten BECHHOLDs (1) an roten Blutkörperchen und durch die Modellversuche HATTORIs (2) eine weitgehende physikalisch-chemische Stütze erhalten haben. Nimmt man noch die Arbeiten R. COLLANDERs (6).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

HANSTEEN-CRANNERs (7) und KAHLOs (8) hinzu, so darf gesagt werden, daß die Lipoidtheorie der Permeabilität, die schon als fast erledigt galt, eine derartige Festigung erhalten hat, daß sie als gesichert gelten kann, so daß die ablehnende Haltung RUHLANDs unbegründet ist.

Literaturbericht.

1) BECHHOLD, H., Münchener med. Wochenschrift Nr. 5 S. 127—130, 1921.

2) HATTORI, Kenzo, Biochem. Ztschr. 119 S. 45—64, 1921.

3) F. BOAS in Biochem. Ztschr. 117 S. 166—214, 1921, und Ber. Deutsche Bot. Ges. 38, S. 350—353, 1921. Vorläufige Mitteilung.

4) KOBERT, R., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.

5) LUNDBERG, F., Arkiv f. Kemi, Mineralogi och Geologi 4, Nr. 32, 1—24, 1912.

6) COLLANDER, R., Jahrbücher f. wiss. Botanik 60, S. 350—410, 1921.

7) HANSTEEN-CRANNER, B., diese Ber. 37, 380 ff., 1919.

8) KAHLO, H., Biochem. Ztschr. 123, 284 ff., 1921.

(Die Arbeit wird fortgesetzt und auf die Wirkung von Agaricin, Solanin, Gallensäuren, Jalapin etc., die alle lipoidverändernde Eigenschaften haben, ausgedehnt.)

---

6. Wilhelm Nienburg: Die Keimungsrichtung von Fucuseiern und die Theorie der Lichtperzeption.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Mit 1 Abbildung im Text.)

(Eingegangen am 25. Oktober 1921. Vorgetragen in der Novembersitzung.)

Obwohl die Mehrzahl der Arbeiten, die sich in den letzten Jahren mit dem Problem „Lichtrichtung oder Lichtabfall?“ beschäftigt haben, sich im Sinne der Lichtabfallstheorie entschieden (NIENBURG, Ber. 1918, S. 499. GUTTENBERG, Ber. 1919, S. 299. BUDER, Ber. 1920, S. 10), sind die Stimmen, die zugunsten der Lichtrichtungstheorie sprechen, keineswegs verstummt. Ihr Hauptvertreter ist LUNDEGARDH (Ber. 1919, S. 229; 1921, S. 223), der an den Arbeiten seiner Gegner vor allem auszusetzen hat, daß sie den Strahlengang im Innern der Untersuchungsobjekte, die meist Koleoptile von *Avena* waren, nicht genügend berücksichtigt hätten. Er konstruiert den Gang, den die Lichtstrahlen bei tangentialer Beleuchtung der Koleoptile theoretisch nehmen müssen, und findet,

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1922

Band/Volume: 40

Autor(en)/Author(s): Boas Friedrich

Artikel/Article: Die Wirkung der Saponinsubstanzen auf die Hefezelle. 32-38