

Blatt aus Zellen sich zusammensetzt, so muss das Wachstum der Zelle ebenso durch das Wachstum ihrer Plasomen erfolgen, wie ein vielzelliges Organ infolge der organischen Volumsvergrößerung seiner Zellen wächst“. Wie aber vollzieht sich das Wachstum der Plasomen? Als Teile des Plasmas kommt ihnen auch die Kohäsion desselben zu. Sie sind also durch leichte Verschiebbarkeit der Teilchen ausgezeichnet. „Auf dem Wege der Diffusion und Absorption treten Wasser und gelöste feste Körper, bezw. Gase in diese Körperchen (die eben geteilten Plasomen) ein und werden daselbst assimiliert, wobei die festen Assimilationsprodukte das Volumen des Plasoms fixieren“. Unbeantwortet bleibt hierbei die Frage, wie im Plasom die eintretenden oder gebildeten chemischen Individuen organisiert werden, wie also „die toten Bausteine in die schon bestehende lebende Einheit sich so einfügen, dass dieselben unter den Bedingungen ihrer Existenz in einem bestimmten Zeitpunkte aufgehoben wird und Teilung eintritt“.

Die in oder an der Zelle sich abspielenden Teilungsvorgänge beruhen nach Wiesner auf der Teilungsfähigkeit der Plasomen. Teilt sich z. B. das Plasma als Ganzes, dann ist es eine Schichte von Plasomen, in welchen sich die Teilung vollzieht. Wachstum des Plasmas und der Plasomen sind dem Wesen nach verschieden. Ergänzt das Plasom durch Wachstum seine Masse, so ist das Wachstum des Plasmas durch die Neubildung wachsender Plasomen bedingt.

Eine Mitbeteiligung der Volumenvergrößerung der Zelle durch Dehnung ist nicht ganz ausgeschlossen. Sie kann im gleichen Sinne beteiligt sein, „wie beim Wachstum eines aus Zellen bestehenden Organes“, hervorgerufen durch den Gesamtdruck des Cytoplasmas.

## Ueber die physiologischen Funktionen der Phosphorsäure.

Von O. Loew,

Privatdozent an der Universität in München.

Die Frage, warum die Phosphorsäure für pflanzliches wie tierisches Leben so überaus wichtig ist, hat die Physiologen vielfach beschäftigt. Als man fand, dass der für Zellteilung und Fortpflanzung so wichtige Zellkern aus einer Verbindung von einem Eiweißstoff mit Phosphorsäure, dem Nuklein<sup>1)</sup> besteht, war man einen erheblichen Schritt

1) Vergl. A. Kossel, Die Nukleine und ihre Spaltungsprodukte. Straßburg 1881; Leo Liebermann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 21, 589; E. Zacharias, Bot. Ztg., 1887, S. 282 und 1888 Nr. 28 u. 29. Merkwürdig ist ein Gehalt der Nukleine an Basen der Xanthingruppe. Den Nukleinen ähnlich, vielleicht nur ein polymeres Nuklein, ist das chemisch noch wenig studierte Plastin, welcher in den Zellen nach Behandlung mit Pepsin-Salzsäure und darauf folgender Extraktion des Nukleins mit Soda zurückbleibt; es ist gegen Alkalien und Säuren resistenter als Nuklein und enthält nach Reinke Phosphorsäure. Vergl. hierüber E. Zacharias, Bot. Zeitg., 1887, Nr. 18—24.

vorwärts gekommen. Doch bleibt noch dunkel, warum gerade eine solche Verbindung sich besser zum Aufbau des Zellkerns eignet, wie z. B. ein hochpolymerisierter Eiweißkörper für sich. —

Erklärlich wird aber, dass bei der Entwicklung der Pflanzen „der Phosphor stets den Eiweißstoffen folgt“. Denn wenn aus den Phosphaten in der Pflanze das unlösliche Nuklein gebildet wird, so müssen nach den Gesetzen der Osmose stets dahin neue Mengen von Phosphaten strömen, wo dieselben aus der Lösung verschwinden. Also müssen in den Teilen der Pflanze in denen Wachstum und Zellteilung resp. Neubildung von Zellkernmasse am lebhaftesten stattfindet auch relativ die größten Mengen Phosphorsäure in der Asche gefunden werden. So hat Weber z. B. bei den peripherischen Teilen des Buchenstammes mehr Phosphorsäure in der Asche gefunden, als bei den zentralen Teilen, während für Kali das Umgekehrte gefunden wurde<sup>1)</sup>.

Liebig schrieb der Phosphorsäure eine Rolle beim Eiweißbildungsprozess zu: „Die verbrennlichen Teile der Samen sind reich an Stickstoff, alle Samenaschen enthalten Phosphorsäure; die Untersuchungen von Mayer, Fehling und Faist haben mit Bestimmtheit dargethan, dass zwischen diesen beiden Samenbestandteilen, dem stickstoffhaltigen oder Blut bildenden Stoffe und der Phosphorsäure ein Verhältnis der Abhängigkeit besteht; mit der Zu- oder Abnahme an dem einen wächst oder vermindert sich die Menge des andern Bestandteiles, so dass wir uns die Bildung des stickstoffhaltigen Stoffes ohne die Gegenwart und Mitwirkung der Phosphorsäure nicht denken können“<sup>2)</sup>.

Spätere Untersuchungen haben freilich gezeigt, dass das Verhältnis von Phosphorsäure zum Stickstoffgehalt bei verschiedenen Pflanzensamen kein so konstantes ist, wie man anfänglich glaubte<sup>3)</sup>. So wurde dasselbe bei Leguminosensamen zwischen 1:4 und 1:6 schwankend gefunden, beim Roggen zwischen 1:2,0 und 1:2,3, bei den Weizenkörnern zwischen 1:2,3 und 1:3,3.

Welche Phosphorsäureverbindung Liebig als beim Eiweißbildungsprozesse thätig vermutete, geht aus seinen Aeußerungen nicht hervor. In den Samen ist die Hauptmenge der Phosphorsäure in Form anorganischer Phosphate abgelagert; ein kleiner Teil ist als Nuklein der Zellkerne und als Lecithin vorhanden, wohl auch als Pflanzenkasein, dessen Phosphorsäuregehalt nach Ritthausen wesentlich ist. Der Umstand aber, dass Phosphate im Samen abgelagert sind, lässt viel eher Schlüsse auf den Bedarf für den sich entwickelnden Embryo

1) Robert Hartig und Rudolf Weber, Das Holz der Rotbuche. Berlin 1888.

2) Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie, 7. Aufl., I, S. 92.

3) Vergl. Detmer, Physiologie des Keimungsprozesses S. 92 und Ritthausen und Pott, Landw. Versuchsstationen, XVI, 398.

als auf die Mitwirkung beim Eiweißbildungsprozess im reifenden Samen zu. Die Aufspeicherung ist notwendig zur Bildung des Nukleins; dass ferner Proteinstoffe und Phosphate in nur mäßig schwankenden Proportionen zu einander aufgespeichert werden, dürfte am ehesten als eine Anpassungserscheinung aufzufassen sein. In den Zellen steht die Nukleinmenge (resp. der Zellkern) auch in einem gewissen Verhältnis zum Cytoplasma-Eiweiß und wenn die Bedingungen eines normalen Wachstums bei dem sich meist sehr rasch entwickelnden Embryo erfüllt sein sollen, wird auch das Verhältnis zwischen Phosphaten und Proteinstoffen kein ganz unbestimmtes sein dürfen.

Die Phosphate, primäre und sekundäre, mögen zum Teil mit den Proteinstoffen chemisch verbunden in den Samen abgelagert sein, was bei der dreibasischen Natur der Phosphorsäure leicht begreiflich wäre. Wahrscheinlich sind aber diese Verbindungen nur lockere, schon durch viel Wasser zersetzbare, da die basischen Eigenschaften der Eiweißkörper nur schwach ausgeprägt sind. Für die Existenz jener Verbindungen spricht z. B. die Beobachtung, dass die Gegenwart von Dinatriumphosphat die Fällung von Albuminatlösungen beim Ansäuern verhindert. Wir wissen ferner, dass beim Fleischansatz im Tiere stets Phosphate mitgespeichert werden, welche in Hungerperioden neben dem Stickstoff der zersetzten Eiweißkörper im Harn wieder erscheinen<sup>1)</sup>. Diese Speicherung der Phosphate bringt mancherlei Vorteile für das Tier mit sich.

Dass die Körnerproduktion aufs Innigste mit der Phosphatzufuhr zusammenhängt, ist seit lange bekannt, aber nicht der Grund dieser Erscheinung<sup>2)</sup>. Die Erklärung wäre einfach, wenn sich die Ansicht von Schmitz und Strassburger bestätigen würde, dass dem pflanzlichen Zellkerne auch die Funktion der Eiweißbildung zukäme. Die Rolle der Phosphorsäure würde in der Ermöglichung der Bildung des aktiven Nukleins<sup>3)</sup> des Zellkerns bestehen, welcher durch seine

1) Im Muskelfleische ist das Verhältnis von Phosphorsäure zum Stickstoff wie 1 : 7; im Hungerharn steigt jedoch die Phosphorsäure relativ an, weil wie Munk zeigte, sich auch das Knochengewebe beim Umsatz beteiligt; siehe Biol. Centralblatt, VII, 372.

2) Vergl. Lehrbuch der Agrikulturchemie v. A. Mayer, 3. Aufl., I, 253, Anmerkung. — In der ganzen organischen Chemie ist keine einzige Thatsache bekannt, wonach die freie Phosphorsäure chemische Umsetzungen herbeiführen könnte verschieden von denen der Salz- oder Schwefelsäure. Und was phosphorsaure Salze der Alkalien betrifft, so bemühte ich mich vergebens, einen Einfluss derselben auf verschiedene chemische Vorgänge zu erkennen. Ich ließ z. B. eine 2proz. Formaldehydlösung mit 5proz. Dikaliumphosphat 3 Monate lang stehen, ohne eine Spur von Zuckerbildung zu beobachten, während Kalkhydrat schon nach 3—4 Tagen diese bewerkstelligt. Auch bei Versuchen mit stickstoffhaltigen Körpern war ich nicht glücklicher. —

3) Dass das Nuklein des lebenden Kernes einen labilen Eiweißkörper enthält, der beim Absterben der Zelle verändert wird, ist eine logische Folgerung aus verschiedenen Thatsachen.



energische Atombewegungen diejenigen Reduktionen, Spaltungen und Kondensationen herbeiführen könnte, welche schließlich zum Molekül des aktiven Eiweißstoffs führen. Jene Rolle wäre daher eine indirekte oder sekundäre.

Für die Ansicht von Schmitz und Strassburger ließe sich anführen, dass auch die zu den Eiweißstoffen gehörenden Enzyme vom Kerne secerniert werden.

Bruno Hofer<sup>1)</sup> fütterte Amöben mit Paramäcien und teilte sie dann in kernlose und kernhaltige Stücke; letztere verdauten das Futter, erstere nicht, obgleich sie noch längere Zeit fortlebten. Freilich ist es eine geringere chemische Leistung für die Zellen, Enzyme aus Eiweißstoffen herzustellen, als die Eiweißstoffe synthetisch zu bilden<sup>2)</sup>.

Größere Mengen von Nuklein werden von Spross- und Schimmelpilzen<sup>3)</sup> gebildet, welche wie die Spaltpilze zur energischen Ausübung ihrer spezifischen Thätigkeiten einer bedeutenden Zufuhr von Phosphaten bedürfen. Möglicherweise hängt die Gärthätigkeit der Spross- und Spaltpilze, sowie die große Oxydationstüchtigkeit der Schimmelpilze mit dem Nuklein zusammen.

Abgesehen von der Knochenbildung bei Wirbeltieren spielt die Phosphorsäure aber noch eine andere wichtige Rolle und zwar in der Form von Lecithin. Man hat diesen Körper im Hirn, Nerven, Eidotter, in den Blutkörperchen, in tierischen wie pflanzlichen Fetten<sup>4)</sup>, in den Samen der Phanerogamen ebensogut wie in Algen und Pilzen nachgewiesen. Die Reindarstellung aus pflanzlichen Objekten (Wicken- und Lupinensamen) gelang aber erst vor Kurzem E. Schulze<sup>5)</sup>. Aus Eidotter wurde das Lecithin schon i. J. 1847 von Gobley gewonnen<sup>6)</sup>. Ueber die Rolle des Lecithins ist noch nichts Sicheres bekannt. Meiner Ansicht nach ist wohl die plausibelste Annahme die, dass die physiologische Verbrennung des Fettes durch das Lecithin ermöglicht, oder wenigstens erleichtert wird. Das

1) Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München, 1889, S. 59.

2) Es ist in dieser Hinsicht die oft bedeutende Größe der Zellkerne in Drüsen einerseits, in den Meristemzellen andererseits von einigem Interesse.

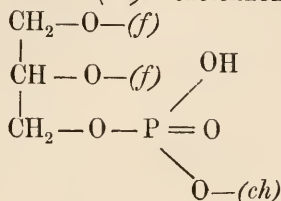
3) Stutzer, Zeitschrift für physiol. Chemie, VI, 573.

4) Stellwag (Landw. Versuchsstat., XXXVII, 136) fand z. B. im Fett der Kartoffel 3,07 pCt., im Fett der Erbsen aber 27,37 pCt. Lecithin. Ueber Lecithinbestimmung vergl. auch E. Schulze, Zeitschr. f. phys. Chemie, XIII, 382.

5) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., XIV, 71.

6) Eine dem Lecithin nahestehende weitere Phosphorverbindung, Jecorin genannt, wurde i. J. 1886 von E. Drechsel in der Leber entdeckt und später von Baldi auch im Hirn, Blut, Milz und Muskel nachgewiesen. Ber. Sächs. Akad. d. Wiss., Febr. 1886 und Archiv f. Anat. u. Physiol., 1888, S. 100. Die von Liebreich Protagon genannte phosphorhaltige Substanz des Gehirnes ist nach Hoppe-Seyler ein Lecithin-haltiges Gemenge.

Lecithin besteht bekanntlich aus Fettsäuren, Glycerin, Phosphorsäure und Cholin. Wir wollen der Einfachheit halber die Fettsäureradikale mit (*f*), den Cholinrest mit (*ch*) bezeichnen, die allgemeine Formel wird dann:



Wenn wir uns nun denken, dass die Fettsäuren (*f*) wegoxydiert werden, so können stets neue Moleküle Fettsäuren aus zerlegten Fetten in die freigewordenen Stellen eintreten<sup>1)</sup> und von Neuem zur Verbrennung gelangen. Das Lecithinmolekül erscheint quasi als eine Maschine, in welcher die Fettsäuren in einem leicht verbrennlichen Zustand dem Protoplasma dargeboten werden.

Der Grund, warum die physiologische Verbrennung der höheren Fettsäuren in der Lecithinform weit leichter stattfinden kann als in Form von Neutralfetten oder freier Säuren, liegt nahe. Während diese in Wasser unlöslich sind, daher nicht fein genug verteilt werden können, hat das Lecithin wie bekannt die Eigenschaft in Wasser aufzuquellen. Ja das Lecithin ist sogar in Wasser etwas löslich. Wenn man mit Wasser aufgequollenes Lecithin mit viel Wasser gut schüttelt, und das schwach opalisierende Filtrat mit starker Salzsäure versetzt, so bemerkt man sofortige Trübung und nach mehrstündigem Erwärmen ausgeschiedene beim Erkalten erstarrende Oeltröpfchen, welche aus den abgespaltenen Fettsäuren bestehen.

Auch die klare Lösung des Weißen von Hühnereiern enthält etwas Lecithin gelöst.

Dass ein Körper im gelösten Zustande dem Protoplasma dargeboten werden muss, wenn er ausgiebig veratmet werden soll, wird am besten durch das Verhalten des tierischen und der pflanzlichen Cholesterine illustriert. Diese stetigen Begleiter der Fette, welche bei der Verbrennung mehr Kalorien liefern würden, wie die Fette, unterliegen doch nicht dem Verbrauche<sup>2)</sup>; jedenfalls deshalb nicht, weil in den Zellen keine löslichen Verbindungen desselben entstehen<sup>3)</sup>. Gerade diese Beständigkeit aber mag das Cholesterin

1) Man findet bekanntlich häufig in den pflanzlichen Fetten Beimengungen freier Fettsäuren. So enthält z. B. nach Stellwag (l. c.) das Erbsenfett 11,22 pCt., das Kartoffelfett 56,92 pCt., das Gerstenfett 14,0 pCt. freier Fettsäuren.

2) Vergl. E. Schulze und J. Barbieri, Ueber das Verhalten der Cholesterine bei der Keimung. Journ. f. prakt. Chemie, XXV, 159 und Landw. Versuchsstationen, XXXVI, 416.

3) Die Cholesterine dürften am ehesten als Nebenprodukte bei der Fettbildung aus Zucker aufzufassen sein. Da nun Zucker (resp. Fett) auch aus

im Tierkörper zu andern Funktionen sehr wertvoll machen; der hohe Gehalt von 51 Prozent in der trocknen weißen Substanz des Gehirns gibt jedenfalls zu denken. —

Es ist gewiss eine interessante Thatsache, dass da wo ein recht lebhafter Atmungsprozess eingeleitet wird, auch das Lecithin in größeren Mengen vorhanden ist. Gerade die Eier und Keimlinge sind reich daran. Maxwell fand vor Kurzem, dass der Lecithingehalt während der Keimung beträchtlich zunimmt<sup>1)</sup>, so bei *Phaseolus* von 0,933 pCt. des Gehalts im Samen auf 3,230 pCt. bei dem Stadium der *Plumula*-Entwicklung; im Baumwollsamem von 0,94 pCt. auf 2,00; bei Mais von 0,186 auf 0,319 pCt. Da 75 Teile des gekeimten Materiales durchschnittlich aus 100 Teilen der reifen Samen (beide auf wasserfreiem Zustand berechnet) hervorgegangen sind, so vermehrte sich also die Lecithinmenge auf circa das 2 $\frac{1}{2}$  fache bei *Phaseolus*. Dass es hier aus den Phosphaten der Samen und dem Neutralfett derselben behufs leichter Verbrennung des Fettes entstanden ist, dürfte wohl nicht zu bezweifeln sein.

Dass das Lecithin in Tieren dem Verbräuche leicht unterliegt, zeigt eine neuere Mitteilung von Heffter über die Abnahme des Lecithins in der Leber beim Hungerzustand<sup>2)</sup>.

Wenn wir in den Blutkörperchen zwar Lecithin aber kein Fett finden, so kann das wohl kaum als ein Argument gegen die Ansicht von der Lecithinbildung aus Fett benützt werden. Es wäre ja sehr wohl denkbar, dass in diesen Gebilden aus der zugeführten Glukose sofort Lecithin statt Neutralfett entstünde, was bei dem reichlichen Gehalte an Phosphaten im Blute nicht überraschen könnte.

Nun ließe sich einwenden, dass bei den höheren Tieren die Fette vor ihrer Verbrennung in die löslichen Alkaliseifen übergeführt werden können, und die thatsächlich im Blute in geringer Menge aufgefundenen Seifen die Form seien, in welcher die höheren Fettsäuren zur Verbrennung im Protoplasma gelangen. Wenn dieses richtig wäre, so müsste die Annahme gemacht werden, dass sich neue Mengen Seife nur in dem Maße bilden, als sie der Verbrennung unterliegen; denn ziemlich geringe Mengen Seife wirken nach Muncck giftig und schon 0,14 g Oelsäure als Natronseife bringen bei einem Kaninchen das Herz nach 40—50 Minuten zum Stillstand<sup>3)</sup>.

Das Lecithin ist gegenüber den Seifen weit vorteilhafter für die höheren Tiere, es kann sich nicht über einen geringen Grad hinaus

---

Proteinstoffen entstehen kann, so wäre die Auffassung mancher Forscher, dass die Cholesterine Stoffwechselprodukte der Proteinstoffe seien, ebenfalls richtig.

1) Chem. Centralblatt, 91, I, 365. Der Verf. bestimmte die Menge des Lecithins indem er nicht nur den P-Gehalt des Aetherextrakts, sondern auch des ätherlöslichen Teils des alkoholischen Extrakts berücksichtigte.

2) Chem. Centralblatt, 1891, I, 459.

3) Archiv f. Physiologie. Suppl. 1890. S. 116.

in den Säften anhäufen, weil es nur einen geringen Löslichkeitsgrad besitzt. Bei niederen Tieren und bei Pflanzen ist aber nie eine Bildung von Alkaliseifen aus Fetten beobachtet worden und auch aus mehreren Gründen unwahrscheinlich.

Die Unersetzlichkeit der Phosphorsäure durch andere Säuren beim Lecithinmolekül ist leicht zu erklären aus ihrer dreibasischen Natur. Für die Bildung von Lecithin und Nuklein ist sie aber noch durch ihre große Beständigkeit wertvoll. Nitrats und Sulfate können von pflanzlichen, Arseniate auch von tierischen Zellen reduziert werden, Phosphate aber niemals. Von einem Ersatz der mit starken Affinitäten begabten Phosphorsäure durch viel schwächere Säuren wie Bor- oder Kieselsäure kann ohnedies nicht die Rede sein. —

Im Nuklein ist nach Leo Liebermann<sup>1)</sup> nicht die dreibasische oder Orthophosphorsäure, sondern die einbasische oder Metaphosphorsäure enthalten und es gelang sowohl ihm als Pohl<sup>2)</sup> aus Eiweiß und Metaphosphorsäure einen Körper von den wesentlichen Eigenschaften der Nukleine (Unverdaulichkeit, Färbevermögen mit Karmin etc.) zu gewinnen.

Haben nun die Phosphate noch irgend welche andere Wirkungen auf Pflanzenzellen, als diejenigen, welche sich aus der Bildung von Nuklein, resp. eines gut ernährten und gut funktionierenden Zellkernes erklären lassen, oder sich aus der Gegenwart von Lecithin ableiten? Ueber diese Frage konnte man möglicherweise Aufschluss erhalten bei Züchtung von Pflanzen in phosphathaltigen und phosphatfreien Nährlösungen. Alles was man über die Wirkung des Phosphatmangels weiß, beschränkt sich darauf, dass hiebei eine Pflanzenentwicklung entweder nicht oder in nur sehr untergeordnetem Grade möglich ist. Raulin züchtete *Aspergillus niger* in Nährlösungen mit und ohne Phosphorsäure und fand, dass im letzteren Falle die Ernte nur  $\frac{1}{200}$  der ersteren betrug<sup>3)</sup>. Ueber Versuche mit Sprosspilzen äußert sich A. Mayer<sup>4)</sup>: „eine irgendwie mächtige Entwicklung der Gärung und der Hefepilze ist nur möglich, wenn wenigstens Phosphorsäure neben dem Kali gegeben wird. Die Gärung erlahmt jedoch nach einiger Zeit, wenn nicht auch für Zufuhr von Magnesiumsalzen Sorge getragen wird“. — Der Effekt des Phosphatmangels auf höher stehende Pflanzen ist ebenfalls nur in seinem Endresultat bekannt; nie hat man gesucht, die primären Folgen an lebenden Pflanzenzellen zu verfolgen und mit dem Mikroskop die Störungen zu beobachten, welche in erster Linie entstehen.

Ein treffliches Objekt, um die gestellte Frage zu entscheiden, schien mir die Alge *Spirogyra* zu sein. Die Zellen können hier sehr

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., XXI, 598.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, XIII, 294.

3) Compt. rend., LVI, 229.

4) Lehrb. f. Agrikulturchemie, 3. Aufl., III, 149.



gut mikroskopisch durchsucht werden, wenn die Chlorophyllbänder nicht zu eng aneinander liegen, sie sind fähig relativ große Mengen aktives Eiweiß im nicht organisierten Zustand in Zellsaft und Cytoplasma aufzuspeichern, die Zellen haben eine bedeutende Größe, so dass Unterschiede im Wachstum sehr leicht zu konstatieren sind und schließlich war ich seit vielen Jahren gerade mit diesen Objekten so sehr vertraut geworden, dass mir jede abnorme Erscheinung sofort auffallen musste. Ein solches einfaches Objekt versprach jedenfalls eher direkte Aufschlüsse, als eine hoch entwickelte Pflanze mit vielfach differenzierten Geweben, wo die schließlichen Resultate nur das Endglied einer Reihe verwickelterer Vorgänge sein konnten. Die Spirogyren bedürfen nur sehr geringer Phosphatmengen, sie sind fähig, aus unglaublich verdünnten Lösungen die Phosphate aufzunehmen und zu verwenden. Man sieht oft üppige Vegetationen in Tümpeln, in denen Phosphate nur in äußerst minimalen Spuren vorhanden sind. Bringt man sie nun in Nährlösungen in denen etwa 0,5 p. m. Monokaliumphosphat vorhanden ist, so gedeihen sie zwar anfangs weit besser als im Freien, jedoch entwickelt sich bald eine so große Menge von Parasiten (Spaltpilze, Fadenpilze, Infusorien), dass die Kulturen wenig vorteilhaft aussehen. Dieser Uebelstand lässt sich indessen sehr bedeutend vermindern, wenn man relativ sehr wenig Algenmasse als Aussaat nimmt, die Temperatur ziemlich tief hält und die Menge der Phosphate weiter herabsetzt.

Von mehreren Vorversuchen, welche zur Orientierung behufs Auffindung eines recht günstigen Nährstoffverhältnisses angestellt wurden, will ich nur folgenden erwähnen. Die Phosphat-Nährlösung enthielt je 1 p. mille Kalium- und Natriumnitrat, je 0,1 p. mille Calciumnitrat und Magnesiumsulfat (kryst.) und 0,2 p. mille Monokaliumphosphat mit Spur Ferrosulfat. In der Kontrol-Lösung fehlte nur das Phosphat. Die Lösungen waren mit destilliertem Wasser hergestellt, von dessen Unschädlichkeit ich mich zuerst überzeugt hatte <sup>1)</sup>. Nach 3 Wochen zeigte sich, dass die Phosphatzellen (so will ich kurzweg die in der phosphathaltigen Nährlösung kultivierten Spirogyrenzellen nennen) der *Spirogyra nitida* erheblich länger waren als die Kontrolzellen und dass jene auch einen weit größeren Gehalt an oxalsäuren Kalk besaßen als diese. Höchst auffallend erschien mir sofort die Thatsache, dass die meist kreuzweise gestellten Prismen desselben in der Nachbarschaft des Zellkerns, also im zentralen Teile der zylindrischen Zellen, teils im Cytoplasma, teils in den Plasmodiensträngen sich befanden. Es ließ sich somit einerseits eine intensivere chemische Thätigkeit bei den Phosphat-

1) Häufig enthält das destillierte Wasser minimale Spuren von aus dem Destillationsapparate stammenden Metallen, die schädlich wirken können. In reinem destillierten Wasser hatte ich ohne jedweden Zusatz Spirogyren mehrere Wochen am Leben.



zellen folgern, anderseits aber, dass bei der Bildung der Oxalsäure der Zellkern einen Einfluss übt. Da nun immer wahrscheinlicher wird, dass wenigstens ein großer Teil der Oxalsäure durch Wechselwirkung zwischen Zucker und Nitraten beim Eiweißbildungsprozess entsteht, wobei in der ersten Phase die Nitrate in Ammoniak verwandelt werden und ihren Sauerstoff auf den Zucker werfen, diesen zu Oxalsäure (und andere organische Säuren) oxydierend<sup>1)</sup> — so gewinnt die oben zitierte Ansicht von Schmitz und Strassburger über die eiweißbildende Funktion des Zellkerns eine weitere Stütze.

Bei dem schließlichen Hauptversuch verfuhr ich wie folgt: In zwei je 5 Liter haltende Glasflaschen wurden je 2 Liter Nährlösung von folgender Zusammensetzung gebracht:

Kaliumnitrat . . .	0,2 p. mille
Calciumnitrat . . .	0,2 p. mille
Natriumsulfat . . .	0,1 p. mille <sub>2)</sub>
Magnesiumsulfat . . .	0,1 p. mille <sup>1)</sup>
Ferrosulfat . . . .	Spur

Eine der Lösungen erhält außerdem noch 0,1 p. m. Monokaliumphosphat und manchmal wurden ein paar Blasen Kohlensäure in beide Flaschen, die mit Glasstöpsel verschlossen wurden, eingeleitet.

Da eine andere Versuchsreihe über die Verwendung organischer Schwefelverbindungen für die Eiweißbildung in den Spirogyren mich in meiner Vermutung bestärkte, dass das Methylsulfid eine günstigere Schwefelquelle abgebe, als Sulfate<sup>3)</sup>, so setzte ich zu beiden Flaschen, um den Prozess der Eiweißbildung möglichst zu erleichtern, noch je 0,05 p. mille Methylsulfid. Dieser stark riechende Körper wird sogar noch in einer Konzentration von 1 p. mille von verschiedenen Algen ertragen.

Die zu dem Versuche dienenden *Spirogyra*-Arten, *Sp. nitida* und *Sp. Weberi* wurden zuerst mit viel Wasser gewaschen, um Infusorien und Pilzsporen möglichst vollständig zu entfernen; dann wurde eine größere Partie Fäden zu einem Strange vereinigt und in 3 gleichlange Teile geteilt. Ein Teil diente zur Trockensubstanzbestimmung, er wog nach dem Trocknen bei 100° 0,022 g. Die andern beiden Portionen wurden in die Nährlösungen versetzt, welche zunächst 4 Wochen (Mitte Dezember bis Mitte Januar) bei einer Temperatur von 3—6° dann weitere 4 Wochen bei 10—12° stets im zerstreuten Tageslicht stehen blieben.

Es ergab sich nun schon beim bloßen Anblick ein sehr großer Unterschied: Die Vegetation der Phosphatalgen nahm einen viel größeren Raum ein als die der Kontrollalgen und das schöne Dunkel-

1) Vergl. auch O. Loew. *Biolog. Centralblatt*, X, 582.

2) Auf den Krystallwasser-haltigen Zustand bezogen.

3) Ueber diese Versuche werde ich später nach weiteren Studien berichten.

grün der ersteren kontrastierte sehr mit dem Gelblichgrün der letzteren<sup>1)</sup>. —

Kleine möglichst gleichgroße Portionen der Algen wurden nun beiden Flaschen behufs mikroskopischer Prüfung entnommen, während die Hauptmengen bei 100° getrocknet gewogen wurden. Das Gewicht betrug bei den Phosphatalgen fast doppelt so viel als bei den Kontrolalgen, nämlich 0,075 g gegenüber 0,039 g. Dass letztere an Gewicht zunahmten beruhte zum Teil sicherlich auf der Bildung einer ziemlich beträchtlichen Menge Stärkemehl, wovon bei der Aussaat nur wenig vorhanden war. —

Die mikroskopische Besichtigung ließ sofort einen sehr großen Unterschied in der Länge der Zellen erkennen, während der Durchmesser überall zwischen nahezu gleichen Grenzwerten schwankte. In beiden Fällen wurden 12 der längsten und 12 der kürzesten Zellen gemessen und der Durchschnitt genommen; das Resultat war bei *Spirogyra nitida*:

	Phosphatzellen	Kontrolzellen
Länge im Maximum . .	483,0 $\mu$	265,3 $\mu$
„ im Minimum . .	330,5 „	142,0 „
Breite im Maximum . .	100,0 „	100,0 „
„ im Minimum . .	80,5 „	82,0 „

Bei *Spirogyra Weberi* ergab sich:

Länge im Maximum . .	458,6 $\mu$	280,6 $\mu$
„ im Minimum . .	345,2 „	203,0 „
Breite im Maximum . .	30,5 „	32,0 „
„ im Minimum . .	25,5 „	25,0 „

Das Längenmaximum der Kontrolzellen ist also noch weit geringer als das Längenminimum der Phosphatzellen. Bei *Spirogyra nitida* ist die durchschnittliche Länge der Kontrolzellen sogar nur halb so groß (203,6) als die durchschnittliche Länge der Phosphatzellen (406,7  $\mu$ ).

Die Gesamtzahl der Umgänge der 3—4 Chlorophyllbänder der Zellen bei *Spirogyra nitida* schwankte zwischen 8 und 10 und zwar ergab sich hier kein Unterschied zu Gunsten der Phosphatzellen. Da aber letztere durchschnittlich doppelt so lang waren als die Kontrolzellen, so konnte man den Zellkern hier gut beobachten, während

1) Außer den Spirogyren hatten sich noch zwei andere Algen eine Konfervenart und eine kleine *Mougeotia* in untergeordneten Mengen in beiden Flaschen entwickelt. Abgestorbene Fäden, Pilze und Infusorien waren im Ganzen wenig zahlreich. — Bei früheren ähnlichen Versuchen hatte ich die Vegetationszeit viel kürzer genommen, daher ein Unterschied in der Massenzunahme weit weniger zu bemerken war. —

bei den kurzen Kontrollzellen die Windungen so eng aneinander lagen, dass man nur selten etwas vom Zellkern zu sehen bekam<sup>1)</sup>.

Bei mangelhafter Ausbildung des Zellkernes wäre das verringerte Wachstum und die langsamere oder unterbliebene Zellteilung leicht begreiflich. Wie das Wachstum aufs engste an den Zellkern gebunden ist, hat Klebs vor einigen Jahren bereits an der Alge *Zygnema* gezeigt, bei welcher es ihm gelang kernlose Stücke herzustellen und dieselben längere Zeit am Leben zu erhalten<sup>2)</sup>.

Dieser Forscher bemerkt noch: „und wenn die kernlosen Stücke vielleicht ein wenig am Gesamtvolumen zuzunehmen schienen, so erklärte sich das wohl ausreichend durch das große in ihnen aufgespeicherte Stärkematerial“. Wie bei den Versuchen von Klebs also die Stärkebildung durch den Mangel des Zellkernes nicht litt, so beobachtete ich ebensowenig einen Einfluss bei der mangelhaften Zellkernernährung: die Kontrollzellen schienen fast noch mehr Stärkemehl aufgehäuft zu haben als die Phosphatzellen.

Der Gerbstoffgehalt, welcher bei Beginn des Versuchs sehr gering war, wurde in beiden Fällen ein verschwindendes Minimum; die *Spirogyra Weberi* wies sogar in den meisten Zellen keine Spur mehr auf. Bei *Spirogyra nitida* blühten sich bei mehrtägigem Liegen in Eisenvitriol nach vorheriger Behandlung mit Koffein nur die Proteosomen des Zellsaftes, nicht aber die des Cytoplasmas. Wie Bokorny und ich bereits früher mitgeteilt haben, kann man in speziellen Nährlösungen auch die letzten Spuren Gerbstoff durch Begünstigung des Eiweißbildungsprozesses zum Verschwinden bringen<sup>3)</sup>.

Was die Fettreaktion betrifft, so gaben die Phosphatzellen nach 12stündigem Aufenthalt in 1prozentiger Ueberosmiumsäure nur selten eine stärkere Reaktion, meist nur schwache Graufärbung; die Kontrollzellen aber gaben in der Regel so intensive Schwärzung, dass das Chlorophyllband nicht mehr zu erkennen war. Bei denjenigen Kontrollzellen, welche etwas weniger intensive Reaktion zeigten, schien es, als ob jene minimalen nur bei 1000facher Vergrößerung sichtbaren Partikeln, welche im strömenden Plasma die Körnchen bilden, sich stärker geschwärzt hätten, als der Rest des Plasmas, was Fett-speicherung vermuten lässt. — Der Grund jenes auffallenden Unterschiedes im Fettgehalte der Zellen bei An- resp. Abwesenheit von Phosphaten mag entweder darin liegen, dass bei der bedeutenden Streckung der Phosphatzellen der aus dem Stärkemehl gebildete Zucker zur Cellulosebildung diene, während die entsprechende Menge bei den im Wachstum gehinderten Kontrollzellen in Fett umgewandelt wurde — oder dass bei der durch Phosphatzufuhr be-

1) Ich beabsichtige daher, an besseren Objekten zu untersuchen, wie weit die Größe des Zellkerns von der Phosphatzufuhr abhängig ist.

2) Biol. Centralblatt, VII, 161.

3) Biol. Centralblatt, XI, 4.



günstigsten Umwandlung von Fett in Lecithin das Fett leichter zur physiologischen Verbrennung gelangte, als in den Kontrollzellen. Möglicherweise wirkten beide Umstände zusammen. Wie verhielt es sich nun mit der Eiweißbildung? Die Spirogyren häufen für gewöhnlich viel aktives Eiweiß in Cytoplasma und Zellsaft auf, bevor dasselbe in Organe (Plasmahaut, Plasmodienstränge, Zellkern, Chlorophyllkörper) verwandelt wird. Dieses nichtorganisierte aktive Eiweiß lässt sich mit Koffein in Kugeln ausscheiden, welche miteinander verschmelzen<sup>1)</sup>. Bei 4stündiger Einwirkung einer kalt gesättigten Koffeidlösung ergab sich nun, dass die Kontrollzellen weit mehr aktives Eiweiß aufgespeichert hatten, als die Phosphatzellen<sup>2)</sup>; der Unterschied war besonders groß im Cytoplasma. Bei Anwesenheit von Phosphat fand also Umbildung des größten Teiles des aktiven Albumins in organisierte Materie statt; aus formlosem Stoff wurde geformter da, wo dem Zellkerne Gelegenheit gegeben war, durch Nukleinbildung zu wachsen und damit auch Wachstum und Teilung der Zellen herbeizuführen. Bei Abwesenheit von Phosphat war keine Neubildung von Nuklein möglich, daher baldiges Nachlassen, resp. Aufhören speziell jener Zellkernfunktionen und deshalb Anhäufung des gebildeten Eiweißstoffes<sup>3)</sup>.

Dass die Synthese von Eiweißstoff auch bei Ausschluss der Phosphate, also in den sich nicht mehr teilenden Zellen (bis zu einem gewissen Sättigungsgrad) fort dauern kann, wurde zwar in unserm Falle aus der Zunahme der Koffeinreaktion bei den Kontrollzellen wahrscheinlich<sup>4)</sup>, ergibt sich aber noch deutlicher aus einigen andern Versuchen: *Spirogyra Weberi* wurde zuerst in einer phosphathaltigen Nährlösung<sup>5)</sup> gezüchtet, bis unter bedeutender Streckung der Zellen sämtliches aufgespeichertes aktives Eiweiß verbraucht war, so dass Koffein keine Proteosomenbildung mehr hervorrief, was nach 2 Wochen der Fall war. Nun wurden die Fäden nach dem Waschen in eine

1) Vergl. Loew u. Bokorny. Biol. Centralblatt, XI, 1.

2) Der Abschätzung nach mindestens 3—4 mal so viel.

3) Dieser Zustand kann auch bei Anwesenheit von Phosphaten unter gewissen Bedingungen eintreten z. B. bei Zusatz von 0,5 pCt. Chlornatrium zu obiger phosphathaltiger Nährlösung. Die Zellen von *Spirogyra nitida* zeigten hierbei nach 3 Wochen selten mehr als 260  $\mu$  Länge und lieferten reichliche Proteosomenbildung mit Koffein. Während also dieser Salzgehalt die Zellkernfunktionen verlangsamt, tritt hierbei noch keine Schädigung der Assimilation ein, wie das bei höheren Pflanzen von Schimper beobachtet wurde (Preuß. Akad. Ber., Juli 1890). Entstärkte Spirogyren bildeten unter diesen Verhältnissen bald reichlich Stärke.

4) Bei solchen Vergleichsversuchen fixiert man nach 4stündiger Koffeinwirkung mit Ueberosmiumsäure und bewahrt die Präparate in Wasser bei Canada-Balsamverschluss auf.

5) Diese enthielt je 0,5 p. m. Calciumnitrat, Magnesiumnitrat und Magnesiumsulfat und 0,1 p. m. Monokaliumphosphat mit Spur Eisenvitriol.

phosphatfreie Nährlösung<sup>1)</sup> gebracht, worauf schon nach 10 Tagen mit Koffein wieder gespeichertes aktives Eiweiß in Zellsaft und Cytoplasma nachgewiesen werden konnte.

Auch bei Versuchen über Eiweißbildung in Algenzellen aus formaldehydschwefligsaurem Natron (wobei nach 4 Wochen dauerndem Aufenthalt im Dunkeln der Stärkevorrat kaum angegriffen wurde) habe ich reichliche Eiweißspeicherung bei Ausschluss von Phosphaten beobachtet<sup>2)</sup>.

Von den Versuchen, die ich über Eiweißbildung aus formaldehydschwefligsaurem Natron bei Lichtzutritt und Gegenwart von Phosphaten machte, erwähne ich noch folgende zwei: In einer Nährlösung, welche hergestellt wurde mit reinstem destilliertem Wasser und je 0,5 p. m. formaldehydschwefligsaurem Natron und Mononatriumkarbonat, ferner je 0,2 p. m. Calcium- und Magnesiumnitrat und je 0,05 p. m. Monokaliumphosphat und Eisenvitriol entwickelten sich Spirogyren überaus schön und üppig und Koffein brachte selbst nach mehreren Wochen noch reichliche Proteosomenbildung hervor, so dass man schließen konnte, dass die Eiweißbildung mindestens ebenso energisch fortging als die Organbildung. — Bei Steigerung der Phosphorsäuremenge aber war dieses Verhältnis geändert. Dieselbe *Spirogyra*-Art (*Sp. nitida*) gab nach mehrwöchentlichem Aufenthalt in einer Nährlösung hergestellt mit je 1 p. m. formaldehydschwefligsaurem Natron, Dikaliumphosphat und Kaliumnitrat und Spuren von Calcium- und Magnesiumnitrat — nur sehr minimale Proteosomenbildung in den sehr gestreckten Zellen. Die Organisierung hatte also ein rascheres Tempo angenommen als die Eiweißspeicherung<sup>3)</sup>. —

Zusammenfassung: Bei Zufuhr von Phosphaten wird Ernährung des Zellkernes und damit Wachstum und Teilung der Zellen ermöglicht. Zellen von Spirogyren können zwar längere Zeit ohne Phosphatzufuhr leben und sowohl Stärkemehl als Eiweiß bilden, doch leidet Wachstum und Vermehrung. Die Ansicht, dass anorganische Phosphate sich bei dem Eiweißbildungsprozess beteiligen, findet in den Beobachtungen an Spirogyren keine Stütze.

1) Diese enthielt: 0,4 p. m. Kaliumnitrat, 0,2 p. m. Natriumsulfat und 0,1 p. m. Calciumnitrat mit Spur Eisenvitriol.

2) Botan. Centralblatt, Nov. 1890.

3) Bringt man Spirogyren, welche viel aktives Eiweiß aufgespeichert haben, in eine phosphathaltige Nährlösung, so kann man während der nächstfolgenden Tage eine rege Zellteilungsarbeit beobachten, welche sich erst mit der Verringerung jenes Vorrates verlangsamt, wobei dann die Zellen vor der Teilung eine größere Länge erreichen.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1891

Band/Volume: [11](#)

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar

Artikel/Article: [Ueber die physiologischen Funktionen der Phosphorsäure. 269-281](#)